



Facultad de Medicina

Departamento de Cirugía, Ciencias Médicas y Sociales

**FACTORES PREDICTORES DE ENFERMEDAD
RESIDUAL EN PACIENTES CON LESION
ESCAMOSA INTRAEPITELIAL DE ALTO
GRADO TRATADAS MEDIANTE
CONIZACIÓN CON ASA DE DIATERMIA**

Tesis Doctoral presentada por

M^a RAQUEL RAMOS TRIVIÑO

Director:

DR. LUIS CHRISTIAN PERNA MONROY

Codirectores:

Dra. Maria Jesús Cancelo Hidalgo

Dr. Juan Carlos Monte Mercado

Alcalá de Henares, 2014

A Daniel mi marido, por caminar a mi lado y mantener viva la ilusión de crecer juntos.

A nuestros tres tesoros: Marina, Javier y Lucía.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Christian Perna por creer en mi proyecto desde el principio, orientarme, alentarme y guiarme, sin sus muchos ratitos esta tesis no hubiera visto la luz.

A la Dra. María Jesús Cancelo por su apoyo y acompañamiento en este proceso, sin cuya insistencia no habría acabado esta tesis doctoral.

Al Dr. Monte Mercado por creer en mi capacidad de trabajo.

Al Dr. Juan Arévalo, por descubrirme la magia de lo números.

A la Dra. Martín Gómez por animarme en los momentos difíciles al elaborar esta tesis durante mi embarazo, apoyarme en las horas de guardia y estar pendiente de la realización de este proyecto.

Al Dr. Martínez Jareño por transmitirme desde el primer día que le conocí el amor por esta profesión y la entrega al trabajo. Gracias por tu amistad, por enseñarme tantas cosas y por tu infinita paciencia.

Al Dr. Martínez Martínez por apoyarme desde el principio con esta tesis doctoral e iluminarme con su experiencia, siempre has sido para mí un ejemplo a seguir en el trabajo de cada día.

A mis padres que han dado y dan todo por mí, ellos han sabido enseñarme siempre el valor del esfuerzo, la constancia y el trabajo, ayudándome en cada momento. Gracias por quererme tanto, todo lo que soy os lo debo a vosotros.

RESUMEN

OBJETIVO: Evaluar si las pacientes mayores de 35 años que presentan una pieza de conización con ≤ 8 mm o ≤ 10 mm de profundidad, márgenes positivos y VPH-AR positivo postconización presentan con mayor frecuencia enfermedad residual/recurrente.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se realizó un estudio observacional, descriptivo y retrospectivo de doscientas sesenta mujeres (edad media $35,2 \pm 13$; rango 28-41) con CIN 2-3 tratadas mediante conización con asa de diatermia, incluyendo el seguimiento después de la cirugía, entre Enero de 2007 y diciembre de 2010 en el Hospital Universitario de Guadalajara. La edad, el genotipado de VPH antes y después de la conización mediante PCR, la profundidad, el volumen y los márgenes de la pieza de conización, fueron evaluados como predictores de enfermedad residual/recurrente.

RESULTADOS: La enfermedad residual/recurrente fue demostrada por biopsia guiada por colposcopia en 17 pacientes (6.9%). El VPH positivo después de la conización y los márgenes afectos fueron asociados significativamente con mayor riesgo de enfermedad residual/recurrente (7.2% vs 0.7%, $P < 0,001$; y 22.2 % vs 4.4%, $P < 0.001$). La edad mayor de 35 años fue un factor de riesgo para presentar enfermedad residual/recurrente (12.5 % vs 3,5 %, $P = 0.011$). La profundidad menor o igual de 8 mm en la pieza de conización supuso un mayor riesgo de enfermedad residual recurrente sin significación estadística (10 % vs 6,4 %, $P = 0.32$). El VPH 16 fue el más prevalente antes de la conización (37,2%) y el más prevalente en los 17 casos con enfermedad residual/recurrente.

CONCLUSIONES. Las pacientes intervenidas de una conización con asa de diatermia que presentan mayor riesgo de enfermedad residual/recurrente son aquellas con márgenes afectos y VPH de alto riesgo positivo después de la cirugía. Estas dos variables presentan significación estadística, tanto en el análisis de regresión logística univariante como en el análisis multivariante. La presencia de VPH de alto riesgo después de la cirugía supone un mayor riesgo de enfermedad residual/recurrente que la presencia de márgenes afectos. Las pacientes con > 35 años presentan mayor riesgo de enfermedad residual/ recurrentes en el análisis de regresión logística univariante. En esta serie de pacientes la profundidad de la pieza de conización no se asocia con un mayor riesgo de enfermedad residual recurrente, ni para un punto de corte de 8 mm ni de 10 mm.

INDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	V
I-INTRODUCCIÓN	1
1.- PAPILOMAVIRUS HUMANOS. CLASIFICACIÓN E INMUNIDAD DE LA INFECCIÓN NATURAL	3
1.1.-GENOMA DEL VPH.....	3
1.2.-CLASIFICACION DE LOS VPH: TIPOS, SUBTIPOS Y VARIANTES.....	4
1.3.- BIOLOGÍA DEL HPV. INTERACCION VIRUS-HUÉSPED.	7
1.4.-INFECCIONES PRODUCTIVA, LATENTE Y TRANSFORMANTE.	8
2.-ONCOGÉNESIS POR VPH.	9
2.1.- CONCEPTOS GENERALES.....	9
2.3.-ONCOGENES VIRALES	12
2.4.-MECANISMO DE EVASIÓN TUMORAL. LA PERSISTENCIA DE LA INFECCIÓN VIRAL.	15
3.-EPIDEMIOLOGÍA E HISTORIA NATURAL DEL HPV.	16
3.1.-IMPACTO DE LAS INFECCIONES POR HPV EN ESPAÑA, EUROPA Y EL MUNDO.	16
3.2.-DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS DEL VPH EN MUJERES CON CIN Y CANCER DE CÉRVIX	19
3.3.- FACTORES Y COFACTORES IMPLICADOS EN LA CARCINOGENÉISIS VIRAL	20
3.4.-EVOLUCIÓN DE LA CONDUCTA DE LA MUJER EN ESPAÑA.	25
4.-DIAGNÓSTICO MOLECULAR DEL VPH.	26
4.1.-TEST DEL ADN DE VPH.	26
4.2.-OTROS MARCADORES MOLECULARES: ANÁLISIS DE LA PRESENCIA DE PROTEÍNAS	
ONCOGÉNICAS	28
4.3.-NUEVOS MARCADORES MOLECULARES: TINCIÓN DUAL Y MARCADORES DE	
METILACIÓN.....	30
5.-PREVENCIÓN PRIMARIA DEL CÁNCER CÉRVIX.	31
5.1. PARTÍCULAS SIMILARES AL VIRUS: VLPS (VIRUS LIKE PARTICLES).....	31
6.-PREVENCIÓN SECUNDARIA DEL CANCER DE CÉRVIX. CRIBADO.	35
6.1. CITOLOGÍA	35
6.2. PROTOCOLO DE CRIBADO DE CÁNCER DE CÉRVIX.	38
6.3.-COLPOSCOPIA.	41
7.- TRATAMIENTO DE LA NEOPLASIA CERVICAL INTRAEPITELIAL.....	46
7.1.- TIPOS DE TRATAMIENTO.	47
7.2. COMPLICACIONES DEL TRATAMIENTO.	52
7.3.-SEGUIMIENTO POSTRATAMIENTO	53
7.4.-SITUACIONES ESPECIALES.....	57
II-JUSTIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS. OBJETIVOS.	60
1.-JUSTIFICACIÓN.	60
2.-HIPÓTESIS PRINCIPAL.	60
3.-OBJETIVOS SECUNDARIOS	60
III-MATERIAL Y MÉTODOS.....	61
1.-DISEÑO DEL ESTUDIO.	61
1.1.-CRITERIOS DE INCLUSIÓN.	61
1.2.-CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	62
2.-SELECCIÓN DE PACIENTES.	62
3.-PROTOCOLO DEL ESTUDIO.	63
3.1.-CITOLOGÍA Y TEST DE HPV.	63
3.2. HISTOLOGÍA.	65
3.3.-TRATAMIENTO QUIRÚRGICO: CONIZACIÓN CON ASA DE DIATERMIA	65
3.4.-ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO.....	66
3.5.-ESTUDIO MOLECULAR.	67

3.6.-SEGUIMIENTO DESPUES DE LA CONIZACIÓN.	67
4.- VARIABLES.	68
5.-ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.....	71
IV-RESULTADOS	73
1.-EDAD.	74
1.1. EDAD VARIABLE CUANTITATIVA.	74
1.2.-EDAD ORDINAL	75
1.3.-EDAD BINARIA-	77
2.-CITOLOGIA ANTES DE LA CONIZACIÓN.	79
2.1.-CITOLOGIA PRECONIZACIÓN.	79
2.2.-CITOLOGIA PRECONIZACIÓN BINARIA: ALTO GRADO / BAJO GRADO.	81
3.-VPH ANTES DE LA CONIZACIÓN.	82
3.1.- DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS.	82
3.3.-VPH UN GENOTIPO/COINFECCIÓN.	86
4.-BIOPSIA ANTES DE LA CONIZACIÓN	88
5.-DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DE LA CONIZACIÓN	90
6.-MÁRGENES AFECTOS.....	92
7.-LEGRADO POSTCONIZACIÓN.	95
8.-PROFUNDIDAD DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN.	97
9.-VOLUMEN DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN.	101
10.-CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN.	103
10.1.-PRIMERA CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN.	103
10.2.-SEGUNDA CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN.	106
10.3.-TERCERA CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN.	109
11.-VPH POSTCONIZACIÓN.....	111
11.1.- PRIMERA DETERMINACIÓN DE VPH POSTCONIZACIÓN.	111
11.2.- SEGUNDA DETERMINACIÓN DE VPH POSTCONIZACIÓN.	116
11.3.- TERCERA DETERMINACIÓN DE VPH POSTCONIZACIÓN.....	117
12.-ANÁLISIS CON REGRESIÓN LOGISTICA UNIVARIANTE/MULTIVARIANTE.	119
V-DISCUSIÓN	121
1.-EDAD	121
2.-CITOLOGÍA ANTES DE LA CONIZACIÓN.	125
3.-VPH ANTES DE LA CONIZACIÓN.	126
4.-DIAGNOSTICO HISTOLÓGICO DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN	130
5.-MÁRGENES AFECTOS.....	132
6.-LEGRADO POSTCONIZACIÓN	134
7.-PROFUNDIDAD DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN	135
8.-VOLUMEN DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN.	139
9.-CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN.....	142
10.- VPH POSTCONIZACIÓN.	143
10.1.-DATOS DESCRIPTIVOS Y DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS.....	143
10.2.-ANALISIS UNIVARIANTE Y MULTIVARIANTE.	146
10.3.-SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VALOR PREDICTIVO POSITIVO Y VALOR PREDICTIVO NEGATIVO.	147
VI-CONCLUSIONES	152
VII-BIBLIOGRAFIA.....	153

INDICE DE FIGURAS

ILUSTRACIÓN 1. ESTRUCTURA GENÓMICA DE LOS PAPILLOMAVIRUS HUMANO (ADAPTADA DE SCHWARZ E (1995)[2])	3
ILUSTRACIÓN 2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LOS PAPILLOMAVIRUS (ADAPTADA DE CHAN SY (1995))	4
ILUSTRACIÓN 3. CLASIFICACIÓN DE LOS TIPOS DE VPH. (ADAPTADA DE REFERENCIA CHAN SY(1995))	6
ILUSTRACIÓN 4. EL CIRCUITO INTEGRADO DE LA CÉLULA. (ADAPTADA DE HANAHAN D (2010)[11])	9
ILUSTRACIÓN 5. CAPACIDADES ADQUIRIDAS EN EL PROCESO DE LA ONCOGÉNESIS RESPONSABLES DE LA TRANSFORMACIÓN A UN FENOTIPO MALIGNO. (ADAPTADA DE HANAHAN D(2010))	10
ILUSTRACIÓN 6. MECANISMO DE ACTUACIÓN Y CAMBIOS CELULARES INDUCIDOS POR LAS ONCO-PROTEÍNAS E6 Y E7, RESPONSABLES DEL FENOTIPO ONCOGÉNICO	14
ILUSTRACIÓN 7. ESQUEMA DE LAS BASES MOLECULARES DE LA TRANSFORMACIÓN ONCOGÉNICA CELULAR POR VPHS DE ALTO RIESGO. EFECTO DE LAS ONCOPROTEÍNAS E6 Y E7 EN LA INICIACIÓN Y PROGRESIÓN ONCOGÉNICA	15
ILUSTRACIÓN 8. DISTRIBUCIÓN DE LOS 10 GENOTIPOS DE VPH MÁS FRECUENTES EN MUJERES CON CÁNCER DE CÉRVIX, H-SIL, L-SIL Y CITOLOGÍA NORMAL, EN ESPAÑA Y COMPARATIVAMENTE EN EUROPA Y EL MUNDO. (ADAPTADA DE WHO/ICO INFORMATION CENTRE ON HPV AND CERVICAL CANCER[21])	18
ILUSTRACIÓN 9. HISTORIA NATURAL DEL CÁNCER DE CÉRVIX	22
ILUSTRACIÓN 10. MECANISMO MOLECULAR DE LA SOBREEXPRESIÓN DE P16	29
ILUSTRACIÓN 11. IMÁGENES DE TINCIÓN DUAL	30
ILUSTRACIÓN 12. CITOLOGÍA CERVICAL	36
ILUSTRACIÓN 13. CRIBADO CÁNCER DE CÉRVIX EN MUJERES NO VACUNADAS PUIG TINTORÉ, LM (2006)	39
ILUSTRACIÓN 14. DOS PREGUNTAS CLAVES EN LA PREVENCIÓN DEL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO	40
ILUSTRACIÓN 15. PREVENCIÓN PRIMARIA Y SECUNDARIA DE LOS CÁNCERES DE CUELLO DE ÚTERO VULVA: RECOMENDACIONES PARA LA PRÁCTICA CLÍNICA. ADAPTADO DE CORTÉS Y COLS (2010) ..	40
ILUSTRACIÓN 16. NOMENCLATURA IFPC 2011. ACEPTADA EN EL CONGRESO MUNDIAL DE RÍO. 2011	43
ILUSTRACIÓN 17. CONIZACIÓN CERVICAL	48
ILUSTRACIÓN 18. TRIPLE TOMA WIED	63
ILUSTRACIÓN 19. DISTRIBUCIÓN EN ALTO Y BAJO RIESGO DE ACUERDO A DUNNE	67
ILUSTRACIÓN 20. CONO CON BASE CIRCULAR Y CONO TRUNCADO	69
ILUSTRACIÓN 21. FÓRMULA DE VOLUMEN DEL CONO TRUNCADO	70
ILUSTRACIÓN 22. ELIPSE	70
ILUSTRACIÓN 23. HEMI-ELIPSE Y VOLUMEN.	71
ILUSTRACIÓN 24. DIAGRAMA DE BARRAS. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	73
ILUSTRACIÓN 25. HISTOGRAMA: EDAD DE LA MUESTRA	74
ILUSTRACIÓN 26. DIAGRAMA DE CAJA. EDAD DE LA MUESTRA	74
ILUSTRACIÓN 27. DIAGRAMA DE CAJAS. EDAD. PACIENTES LIBRES DE ENFERMEDAD VS PACIENTES CON ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	75
ILUSTRACIÓN 28. DIAGRAMA DE BARRAS: EDAD ORDINAL DE LA MUESTRA	76
ILUSTRACIÓN 29. DIAGRAMA DE BARRAS AGRUPADO: EDAD ORDINAL .ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE(SI/NO).	77
ILUSTRACIÓN 30. DIAGRAMA DE BARRAS: EDAD BINARIA.	78
ILUSTRACIÓN 31. DIAGRAMA DE BARRAS: EDAD \leq 0 > DE 35 AÑOS .ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	78
ILUSTRACIÓN 32. DIAGRAMA DE BARRAS: CITOLOGÍA PRECONIZACIÓN	79
ILUSTRACIÓN 33. DIAGRAMA DE BARRAS AGRUPADAS: CITOLOGÍA PRECONIZACIÓN .ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	81

ILUSTRACIÓN 34. DIAGRAMA DE BARRAS. CITOLOGÍA ALTO GRADO/BAJO GRADO, ENFERMEDAD RESIDUAL/ RECURRENTE	82
ILUSTRACIÓN 35. DIAGRAMA DE BARRAS. VPH PRECONIZACIÓN	83
ILUSTRACIÓN 36. DISTRIBUCIÓN INFECCIÓN POR UN SOLO GENOTIPO VPH NO 16 NI 18.....	84
ILUSTRACIÓN 37. DIAGRAMA DE BARRAS. VPH PRECONIZACIÓN 16/18.....	86
ILUSTRACIÓN 38. DIAGRAMA DE BARRAS AGRUPADO. VPH PRECONIZACIÓN UNICO/MÚLTIPLE.	88
ILUSTRACIÓN 39. DIAGRAMA DE BARRAS. BIOPSIA PRECONIZACIÓN.	89
ILUSTRACIÓN 40. DIAGRAMA DE BARRAS. HISTOLOGÍA CONIZACIÓN	90
ILUSTRACIÓN 41. DIAGRAMA DE BARRAS. MÁRGENES AFECTOS.	93
ILUSTRACIÓN 42. DIAGRAMA DE BARRAS AGRUPADAS. MÁRGENES AFECTOS. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	94
ILUSTRACIÓN 43. DIAGRAMA DE BARRAS AGRUPADAS. AFECTACIÓN MARGEN ENDOCERVICAL. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	95
ILUSTRACIÓN 44. DIAGRAMA DE BARRAS. LEGRADO POSTCONIZACIÓN.	96
ILUSTRACIÓN 45. DIAGRAMA DE BARRAS AGRUPADAS. LEGRADO POSTCONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	97
ILUSTRACIÓN 46. HISTOGRAMA: PROFUNDIDAD DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN.	98
ILUSTRACIÓN 47. DIAGRAMA DE CAJAS. PROFUNDIDAD DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	98
ILUSTRACIÓN 48. DIAGRAMA DE BARRAS. PROFUNDIDAD \leq O $>$ DE 10MM	99
ILUSTRACIÓN 49. DIAGRAMA DE BARRAS AGRUPADAS. PROFUNDIDAD \leq O $>$ DE 8MM. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	100
ILUSTRACIÓN 50. DIAGRAMA DE BARRAS AGRUPADAS. PROFUNDIDAD \leq O $>$ DE 10MM. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	101
ILUSTRACIÓN 51. HISTOGRAMA: VOLUMEN DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN.....	102
ILUSTRACIÓN 52. DIAGRAMA DE CAJAS: VOLUMEN DEL CONO. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	102
ILUSTRACIÓN 53. DIAGRAMA DE PUNTOS O DE DISPERSIÓN. VOLUMEN DEL CONO /PROFUNDIDAD DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN.	103
ILUSTRACIÓN 54. DIAGRAMA DE BARRAS. 1ª CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN.	103
ILUSTRACIÓN 55. DIAGRAMA DE BARRAS. 1ª CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL-RECURRENTE.....	105
ILUSTRACIÓN 56. DIAGRAMA DE BARRAS AGRUPADA. 1ª CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	106
ILUSTRACIÓN 57. DIAGRAMA DE BARRAS AGRUPADAS. 2ª CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	108
ILUSTRACIÓN 58. DIAGRAMA DE BARRAS. 1 VPH POSTCONIZACIÓN.	112
ILUSTRACIÓN 59. DIAGRAMA DE BARRAS AGRUPADAS. PRIMERA DETERMINACIÓN DE VPH POSTCONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	114
ILUSTRACIÓN 60. DIAGRAMA DE BARRAS AGRUPADAS. 1 VPH POSTCONIZACIÓN POSITIVO/NEGATIVO ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	115
ILUSTRACIÓN 61. DIAGRAMA DE BARRAS AGRUPADAS. SEGUNDA DETERMINACIÓN DE VPH POSTCONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	116

INDICE DE TABLAS

TABLA 1. PREVALENCIA VPH ESPAÑA, EUROPA Y EL MUNDO.	17
TABLA 2. FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA INFECCIÓN POR HPV.....	21
TABLA 3. RECOMENDACIONES DE VACUNACIÓN FRENTE AL VPH CORTÉS BORDOY, J (2007).....	34
TABLA 4. PAUTAS EUROPEAS PARA EL TRATAMIENTO DE LA NEOPLASIA CERVICAL INTRAEPITELIAL	50
TABLA 5. CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA CITOLÓGICA. BETHESDA 2001	64
TABLA 6. TABLA DE FRECUENCIAS. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	73
TABLA 7. TABLA DE CONTINGENCIA. EDAD ORDINAL.	75
TABLA 8. TABLA DE CONTINGENCIA: EDAD ORDINAL. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	76
TABLA 9. TABLA DE FRECUENCIA: EDAD BINARIA $\leq 0 > 35$ AÑOS.	77
TABLA 10. TABLA DE CONTINGENCIA: EDAD $\leq 0 >$ DE 35 AÑOS .ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE. 77	
TABLA 11. TABLA DE FRECUENCIAS: CITOLOGÍA PRECONIZACIÓN	79
TABLA 12. TABLA DE CONTINGENCIA. CITOLOGÍA PRECONIZACIÓN .ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	80
TABLA 13. TABLA DE CONTINGENCIA. CITOLOGÍA ALTO /BAJO GRADO. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	81
TABLA 14. TABLA DE FRECUENCIAS: VPH PRECONIZACIÓN	82
TABLA 15. TABLA DE FRECUENCIAS: VPH PRECONIZACIÓN, 1 GENOTIPO.	83
TABLA 16. TABLA DE CONTINGENCIA. VPH PRECONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL/ RECURRENTE ...	84
TABLA 17. TABLA DE FRECUENCIAS. VPH PRECONIZACIÓN 16/18.	85
TABLA 18. TABLA DE CONTINGENCIA. VPH PRECONIZACIÓN 16/18. ENFERMEDAD RESIDUAL/ RECURRENTE.....	86
TABLA 19. TABLA DE FRECUENCIA. VPH PRECONIZACIÓN ÚNICO/ MÚLTIPLE.....	87
TABLA 20. TABLA DE CONTINGENCIA. VPH PRECONIZACIÓN ÚNICO/ MÚLTIPLE. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	87
TABLA 21. TABLA DE FRECUENCIAS. BIOPSIA PRECONIZACIÓN.	88
TABLA 22. TABLA DE CONTINGENCIA. BIOPSIA PRECONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL /RECURRENTE	89
TABLA 23. TABLA DE FRECUENCIAS. BIOPSIA PRECONIZACIÓN	90
TABLA 24. TABLA DE CONTINGENCIA. HISTOLOGÍA CONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	91
TABLA 25. TABLA DE CONTINGENCIA. HISTOLOGÍA CONIZACIÓN NO LESIÓN/ LESIÓN.....	92
TABLA 26. TABLA DE CONTINGENCIA. MÁRGENES AFECTOS. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE. ...	93
TABLA 27. TABLA DE CONTINGENCIA. AFECTACIÓN MARGEN EXOCERVICAL. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	94
TABLA 28. TABLA DE CONTINGENCIA. AFECTACIÓN MARGEN ENDOCERVICAL. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	95
TABLA 29. TABLA DE FRECUENCIA. LEGRADO POSTCONIZACIÓN.	96
TABLA 30. TABLA DE CONTINGENCIA LEGRADO POSTCONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	97
TABLA 31. TABLA DE FRECUENCIAS. PROFUNDIDAD DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN $\leq 0 >$ DE 8MM.	99
TABLA 32. TABLA DE FRECUENCIAS. PROFUNDIDAD $\leq 0 >$ DE 10MM.	99
TABLA 33. TABLA DE CONTINGENCIA. PROFUNDIDAD DEL CONO $\leq 0 >$ DE 8MM. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	100
TABLA 34. TABLA DE CONTINGENCIA. PROFUNDIDAD DEL CONO $\leq 0 >$ DE 8MM. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	101
TABLA 35. TABLA DE CONTINGENCIA. 1ª CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	104

TABLA 36.TABLA DE CONTINGENCIA. CITO ALTO/BAJO GRADO.ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	105
TABLA 37. TABLA DE FRECUENCIAS: SEGUNDA CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN	106
TABLA 38.TABLA DE CONTINGENCIA. 2ª CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	107
TABLA 39.TABLA DE CONTINGENCIA. 2ª CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	108
TABLA 40.TABLA DE FRECUENCIAS. 3ª CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN.	109
TABLA 41.TABLA DE CONTINGENCIA. 3ª CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	110
TABLA 42.TABLA DE FRECUENCIAS. 3ª CITOLOGÍA ALTO/BAJO GRADO	110
TABLA 43.TABLA DE CONTINGENCIA. 3ª CITOLOGÍA ALTO /BAJO GRADO. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	111
TABLA 44. TABLA DE FRECUENCIA.1 VPH POSTCONIZACIÓN.....	111
TABLA 45.TABLA DE CONTINGENCIA. 1 VPH POSTCONIZACIÓN. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	113
TABLA 46.TABLA DE FRECUENCIA, VPH-AR POSTCONIZACIÓN: UN GENOTIPO, NO VPH16/18.	114
TABLA 47. TABLA DE FRECUENCIA. VPH COINFECCIÓN POSTCONIZACIÓN, NO 16/18.	114
TABLA 48.TABLA DE FRECUENCIAS. SEGUNDA DETERMINACIÓN DE VPH	116
TABLA 49.TABLA DE CONTINGENCIA. SEGUNDA DETERMINACIÓN DE VPH POSITIVO/NEGATIVO POSTCONIZACIÓN.	117
TABLA 50.TABLA DE FRECUENCIAS. TERCERA DETERMINACIÓN VPH POSTCONIZACIÓN.....	118
TABLA 51.REGRESIÓN LOGÍSTICA UNIVARIANTE. TABLA DE VARIABLES /ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	119
TABLA 52.REGRESIÓN LOGÍSTICA MULTIVARIANTE 1. TABLA DE VARIABLES /ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE	119
TABLA 53.LOGÍSTICA MULTIVARIANTE 2. TABLA DE VARIABLES /ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	120
TABLA 54.REGRESIÓN LOGÍSTICA MULTIVARIANTE 3. TABLA DE VARIABLES /ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	120
TABLA 55.RESULTADOS CITOLOGÍA DE ALTO GRADO. ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE.	143
TABLA 56.CASOS CON VPH POSITIVO DESPUÉS DE LA CONIZACIÓN /ENFERMEDAD RESIDUAL-RECURRENTE. CONIZACIONES EN HOSPITAL DE GUADALAJARA 2007-2010.....	144
TABLA 57.ANÁLISIS UNIVARIANTE Y MULTIVARIANTE DE VPH POSITIVO POSTCONIZACIÓN .ANÁLISIS MULTIVARIANTE 2 (EDAD, MÁRGENES, VPH POST).MULTIVARIANTE 3 (MÁRGENES .VPH POST) .	147
TABLA 58.SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VALOR PREDICTIVO NEGATIVO (VPN) Y VALOR PREDICTIVO POSITIVO (VPP) PARA ENFERMEDAD RESIDUAL/RECURRENTE POSTCONIZACIÓN DE LA 1ªCITOLOGÍA Y LA 1ª DETERMINACIÓN DE VPH.....	148

GLOSARIO

VPH .Virus del papiloma humano

VPH-AR: Virus del papiloma humano de alto riesgo

VPH-BR: Virus del papiloma humano de bajo riesgo

PCR. Reacción en cadena de la polimerasa

LCR: local control region

FISH: Hibridación fluorescente in situ

TGI: Tracto Genital inferior

H-SIL: Lesión intraepitelial de alto grado

L-SIL: Lesión intraepitelial de bajo grado

DNA: Acidodesoxiribonucleico

ORF: Open reading frames

VIN: Neoplasia intraepitelial de vulva

VAIN: Neoplasia intraepitelial de vagina

PIN: Neoplasia intraepitelial de pene

AIN: Neoplasia intraepitelial de ano

Ig: gammaglobulina

P53: proteína 53

Rb: retinoblastoma

NK: Natural Killer

hTERT: human Telomerase Reverse Transcriptase

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

FGF: factor de crecimiento de fibroblastos

IARC: Agency for Research on cancer

CIS: carcinoma in situ

CIN1: Neoplasia intracervical de primer grado

CIN2: Neoplasia intracervical de segundo grado

CIN3: Neoplasia intracervical de tercer grado

ACHO: Anticoncepción hormonal.

ARN: Acido ribonucleico

ELISA: Enzyme- Linked ImmunoSorbent Assay: Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas.

LLETZ: Large Loop Excision of the transformation Zone

LEEP: Loop Electrical Excision Procedure
VLPs: Virus like Particles
CTV: Cohorte total vacunada
ITT: Intención total de tratar
SEGO: Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia
AEPCC: Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia
SEAP: Sociedad Española de Anatomía patológica
SEC Sociedad Española de Citología
VPN: Valor predictivo Negativo
VPP: Valor Predictivo Positivo
CCU: Carcinoma de Cuello de Útero
RR: riesgo relativo
ZT: Zona de transformación
FIGO: Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia
URL: Unidades relativas de luz
VAIN: Neoplasia intraepitelial de vagina
TGI: Tracto genital inferior
HUG: Hospital Universitario de Guadalajara
AIS: Adenocarcinoma in situ
OR: Odd Ratio
IC: Intervalo de confianza
Q1. Primer cuartil
Q3. Tercer Cuartil

I-INTRODUCCIÓN

El concepto de que una enfermedad infecciosa (viral) induzca o participe en la génesis de ciertos procesos oncológicos es de aceptación relativamente reciente. Sin embargo, ya en 1908 Ellermann ^[1] observó que una determinada leucemia que afectaba a las aves era capaz de transmitirse de un animal a otro, como si de un agente infeccioso se tratara. En 1911 Peyton Rous experimentó en el pollo que un agente submicroscópico filtrable a través de poros muy pequeños transmitía un sarcoma. En los años 30, Richard Shope demostró la transmisión de tumores cutáneos papilomatosos de conejos silvestres de “cola de ratón” a conejos domésticos (al causante, un papillomavirus, se le conoce como virus de Shope). Rous, en el instituto de Shope, observó que algunas de estas lesiones se transformaban en malignas, que la malignización es más frecuente si al virus se asociaba a metilcloroantreno o quitrán, introduciendo así el concepto de “cofactor”. A Peyton Rous, premio Nobel de Medicina, se le considera pionero en la investigación sobre oncogénesis viral.

En las décadas de los años 50 y 60 distintos virus, la mayoría retrovirus, se relacionan con otros tantos procesos malignos hematológicos y sarcomatosos en distintas especies animales. Gallo en 1980 y 1981 y Yoshida en 1982 aíslan un retrovirus (HTLV-1) en la leucemia de células T humana de los adultos. Sin embargo el primer virus asociado a un proceso humano no fue un retrovirus. En 1964 Epstein y Barr observaron partículas virales pertenecientes a la familia herpes- virus (virus Epstein – Barr) en células linfoblásticas del linfoma de Burkitt.

Zur Hausen es el máximo exponente entre los autores que señalaron el papillomavirus como agente causal del cáncer cervical a mediados de los setenta, en base a algunos datos epidemiológicos, clínicos y experimentales. Sin embargo, durante muchos años la relación de causalidad no pasó de ser una hipótesis atractiva. Recientemente y merced a la utilización de procedimientos de detección más fiables y precisos, como la PCR, han aumentado fehacientemente las evidencias epidemiológicas, hasta el punto de hacerse prácticamente incontrovertibles. Pero

además desde principios de la década de los noventa la relación de causalidad se fundamenta no sólo en clave epidemiológica sino sobre sólidas bases biológicas.

Los primeros papillomavirus (VPH 6 y 11) se aislaban en 1980 y 1982 en muestras de condiloma genital y papiloma laríngeo. En 1983 y 1984 se localizaban los papillomavirus 16 y 18 en muestras de cáncer de cérvix. Las nuevas tecnologías de biología molecular se aplicaban para el estudio del virus del papiloma humano (VPH) (cultivos de piel, PCR, hibridación, FISH...) a partir de la década de los ochenta y principios de los noventa. Los años noventa fueron un punto de inflexión, con avances continuos tanto en fisiopatología como en epidemiología.

En los últimos 30 años se ha observado un notable incremento en la prevalencia de la infección por el virus del papiloma humano (VPH), tanto en sus formas clínicas o condilomas, como en su forma de expresión subclínica, identificables por los cambios en la citología y/o en la colposcopia. Mediante biología molecular se ha evidenciado presencia de ADN de VPH en la mayoría de las lesiones intraepiteliales del tracto genital inferior (TGI) y en más del 99% de los cánceres cervicales. Aunque este hallazgo es insuficiente para explicar su papel oncogénico, en la última década los estudios epidemiológicos apoyados por las técnicas moleculares han confirmado el papel causal de ciertos tipos de VPH en el desarrollo del cáncer cervical y han definido un modelo molecular para la carcinogénesis inducida por el VPH.

Los estudios sobre la historia natural de la infección por VPH evidenciaron que un número importante de mujeres jóvenes se infectaba en las edades de mayor actividad sexual. La mayor parte de estas infecciones se resolvían de forma espontánea y sin consecuencias. La persistencia del VPH se producía en un 5% de las mujeres después de los 35-40 años. Este subgrupo era el de mayor riesgo para desarrollar lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado (H-SIL) y cáncer cervical.

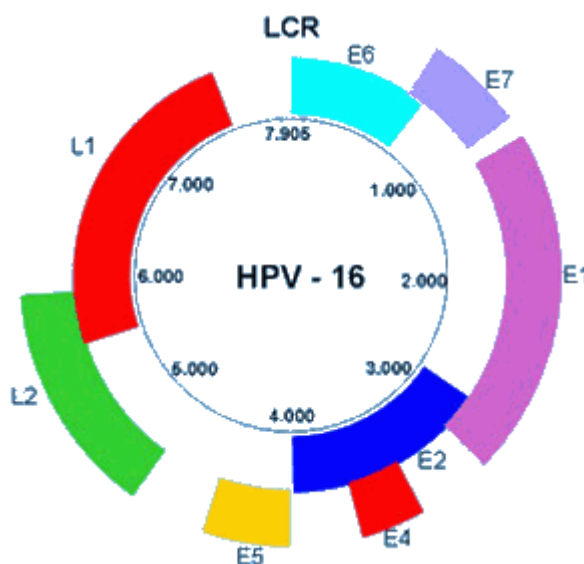
1.- PAPILOMAVIRUS HUMANOS. CLASIFICACIÓN E INMUNIDAD DE LA INFECCIÓN NATURAL

1.1.-GENOMA DEL VPH

Los papillomavirus, miembros de la familia Papovaviridae, son virus pequeños de aproximadamente 55 nm. Una cápside icosaédrica de 72 capsómeros se organiza en torno a una doble cadena de DNA circular con 8000 pares de bases. Cada capsómero se forma por cinco proteínas L1 y una proteína L2. No contiene elementos glucídicos ni lipídicos.

Su estructura genómica es compartida por más de 100 tipos secuenciados hasta la fecha y consta de varios genes u ORF ("open reading frames") de dos tipos diferentes: genes early de expresión temprana (E1-E8), cuya expresión se traduce en proteínas implicadas en la regulación y replicación viral. Y genes "late" de expresión tardía (L1, L2) que genera las proteínas de la cápside viral.

Ilustración 1.Estructura genómica de los papillomavirus humano (Adaptada de Schwarz E (1995)[2])



Mapa del genoma del VPH 16

LCR: región larga de control

Genes estructurales de la cápside

L1: Proteína mayor (72 pentámeros)

L2: Proteína menor (12 moléculas)

Genes no estructurales

E1 y E2: Activadores de la transcripción

E4: Maduración y replicación

E5: Estimula la proliferación

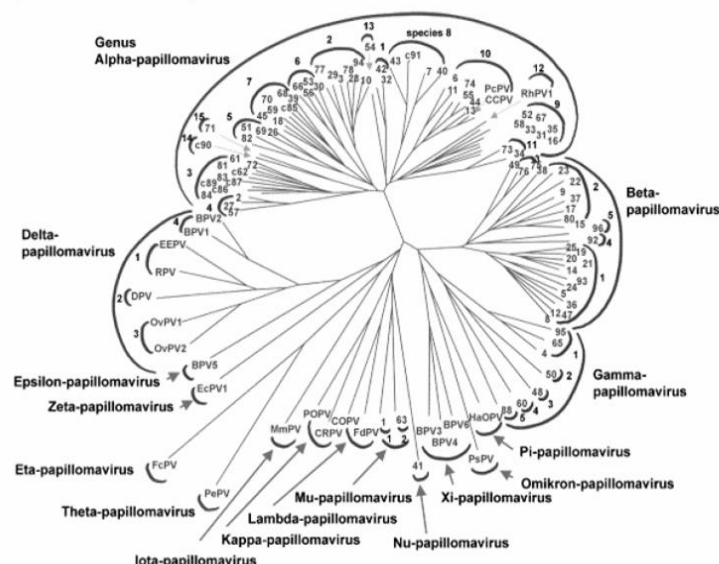
E6 y E7: Oncoproteínas transformantes

Una región de control, LCR (“local control region”) será la encargada de controlar la expresión de los genes E6y E7 ^[2]. Mientras que los genes de expresión temprana difieren notablemente en su secuencia entre los diferentes tipos de VPHs, los genes de expresión tardía, (L), presenta notables similitudes entre ellos. Esta característica, convertirá a estos genes, especialmente L1, en la diana principal de la detección de ADNs virales por métodos de “consenso” al contrario de la detección tipo específica que utilizará genes con alta variabilidad entre tipos como E6 y E7.

1.2.-CLASIFICACION DE LOS VPH: TIPOS, SUBTIPOS Y VARIANTES

Taxonómicamente los VPHs pertenecen a la familia papillomaviridae, grupo de virus que infecta varios animales desde pájaros hasta mamíferos, incluyendo al hombre. Se pueden agrupar en grandes géneros, en primer lugar alfa-papillomavirus de gran importancia clínica ya que agrupa los VPHs que están asociados a lesiones mucosas genitales y no genitales. Otros géneros son los son Beta, Gamma, y Mu papillomavirus que agrupan a los VPHs asociados a lesiones cutáneas benignas o malignas ^[3-5].

Ilustración 2. Clasificación taxonómica de los papillomavirus (Adaptada de Chan SY (1995))

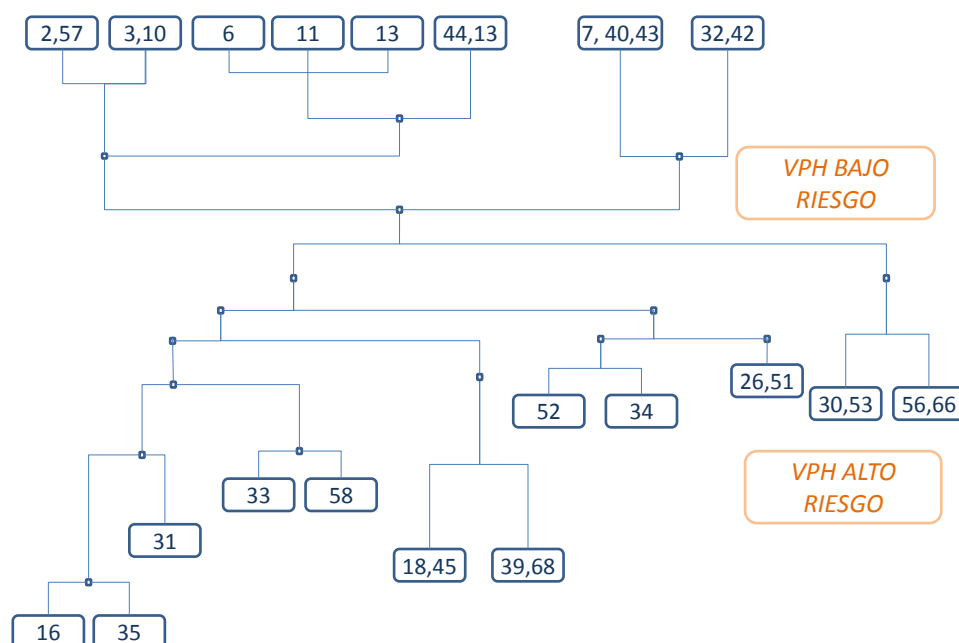


Se dividen en tipos, subtipos y variantes dependiendo del porcentaje del genoma que comparten:

- Tipos o genotipos: > 10% distinto el genoma.
- Subtipos: el genoma es distinto del 2-10%.
- Variantes: el genoma es distinto < 2%.

En general, clínicamente se distinguen dos grandes grupos los cutáneos y los mucosales. Los genotipos cutáneos (VPH 1, 4, 5, 8, 41, 48, 60, 63, y 65) se aíslan frecuentemente en verrugas cutáneas y plantares, en lesiones cutáneas en pacientes con epidermodisplasia verruciforme, en lesiones cutáneas en pacientes inmunodeprimidos post-transplante y en algunos tumores epiteliales. Los tipos mucosales VPH (6,11,13,16,18,26,30,31,32,33,34,35,39,42,44,45,51,52,53,54,55,56,58, 59,64,66,67,68,69,70,73) se identifican en lesiones preinvasoras e invasoras del tracto ano-genital (cérvix, vagina, vulva y ano) y ocasionalmente se aíslan en lesiones de la cavidad oral orofaringe, laringe, y en menor grado en esófago, conjuntiva y lecho ungueal.

Según su riesgo oncogénico, se clasifican en tipos de bajo riesgo (VPH-BR) y de alto riesgo (VPH-AR). La relación filogenética entre los diversos tipos de VPH de bajo y alto riesgo oncogénico se muestra en la Fig.2. Su conocimiento permite explicar las distintas reacciones cruzadas observadas. Se debe tener en cuenta que ciertos tipos virales pueden aparecer en lesiones precancerosas como resultado de una coinfección y no ser los agentes etiológicos causales de la transformación tumoral. Es indudable la implicación en patologías epiteliales de alto grado y en los carcinomas que, en nuestra población, tienen los tipos 16 y 18, y la que tiene los tipos 6 y 11 en las patologías benignas de tipo condilomatoso. Estos tipos virales pueden ocasionar también la papilomatosis laríngea, una complicación rara pero recidivante y de difícil tratamiento.

Ilustración 3. Clasificación de los tipos de VPH. (Adaptada de referencia Chan SY(1995))

Las lesiones neoplásicas del tracto anogenital como la neoplasia intraepitelial de vulva (VIN), vagina (VAIN), pene (PIN) y ano (AIN) están asociadas clásicamente a los HPVs benignos o de “bajo riesgo” como el VPH 6 y el 11, pero más frecuentemente a los VPHs típicamente carcinogénicos o de “alto riesgo” como VPH 16, 18, 45 y 31. El VPH 16 es el que con más frecuencia se asocia con el cáncer de cuello.

La creciente disponibilidad de biología molecular a gran escala ha permitido la secuenciación de grandes series de muestras infectadas, lo que ha relevado diferencias polimórficas en los genes de expresión temprana E6 y en la región de control LCR. Estas diferencias parecen relevar prometedoras expectativas ya que ciertas variantes parecen implicarse de forma diferencial en la progresión de la patología.

Inicialmente asociados a lesiones preinvasivas e invasivas de cáncer de cuello de útero, en los que prácticamente en todos los casos se puede identificar el VPH, hoy sabemos que el VPH también se relaciona causalmente con fracciones variables de pre cánceres y cánceres de vagina, vulva, ano, pene, orofaringe y orolaringe ^[6]. Su papel en la oncogénesis de cánceres de otras localizaciones (p. ej., piel no melanoma, conjuntiva, próstata, mama o lecho ungueal) está siendo investigado. Esta relación causal oncogénica con otras localizaciones que no sean carcinoma de cérvix uterino

está principalmente relacionada con los tipos VPH 16 y 18, aunque también se describe la participación de otros tipos, tanto de alto como de bajo riesgo ^[7].

1.3.- BIOLOGÍA DEL HPV. INTERACCION VIRUS-HUÉSPED.

La presencia de partículas virales en la superficie del epitelio genital o del tracto genital inferior procede del contacto sexual con una pareja infectada. En la mayoría de las ocasiones, estas partículas virales son eliminadas de forma mecánica al ser arrastradas durante la descamación propia del epitelio estratificado, o bien por los agentes de inmunidad inespecífica como los macrófagos. En ambos casos las partículas virales pasan desapercibidas a los agentes de la vigilancia inmune específica y no provocan efecto citopático ni respuesta inmunológica alguna ^[8].

El primer paso para la infección celular requiere el contacto de las partículas virales con su área natural de tropismo situada en el tercio inferior de las células basales, cuya maquinaria utilizarán los VPH para su replicación y propagación, este contacto se ve favorecido por los micro-traumatismos derivados de la actividad sexual y por características favorables del epitelio como son la ectopia y la metaplasia escamosa, habituales en las mujeres jóvenes. Aún a estos niveles, los agentes de la inmunidad inespecífica son capaces de eliminar buena parte de las partículas que colonizan el epitelio. El VPH una vez ha penetrado en el epitelio es reconocido y capturado por las células dendríticas o de Langerhans, que actúan como células presentadoras de antígenos y constituyen la conexión entre el sistema inmune innato y adaptativo.

El VPH por ser un patógeno intracelular estricto, requiere internalizarse en la célula huésped para que se considere una infección verdadera. La internalización requiere necesariamente el reconocimiento de las mismas por un receptor de la superficie de la célula que a su vez provoca un cambio conformacional superficial que permite la endocitosis de las mismas.

Los anticuerpos específicos neutralizantes derivados de la infección natural, en los casos que hay seroconversión que son la mitad, o bien en los derivados de la vacunación, prácticamente el 100%, actúan sobre el complejo receptor-partícula viral

uniéndose a una región específica que evita el cambio conformacional necesario para la internalización de la partícula. En los epitelios donde no se detecten anticuerpos, casi un 50% de los casos con infección natural, o en los que el título de anticuerpos está por debajo de límite de protección teórico ($1/400$ - $1/800$ Ig G), la entrada de la partícula viral a la célula resultará una infección verdadera cuya consecuencia a medio plazo dependerá de la resolución o no por parte de la inmunidad celular. En los casos en los que no sea competente se pueden producir cambios celulares acumulativos derivados de los errores genéticos intrínsecos celulares o de los provocados por la presencia de cofactores, en un proceso denominado clastogénesis que es la base de la transformación neoplásica ^[9].

1.4.-INFECCIONES PRODUCTIVA, LATENTE Y TRANSFORMANTE.

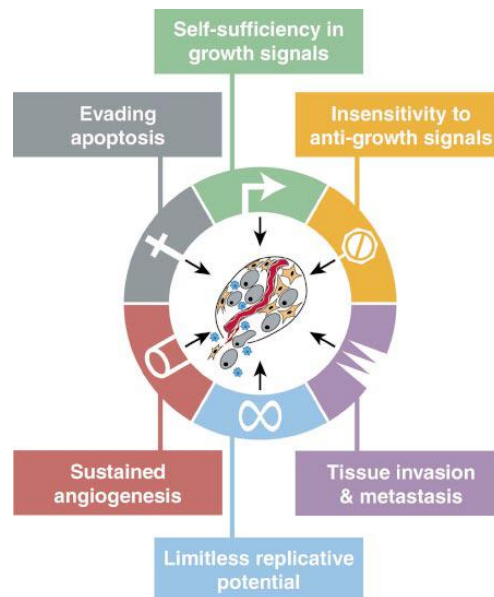
Una vez que el virus ha logrado internarse en la célula que le ha de servir como huésped, utilizará la maquinaria biológica de ésta para desarrollar un ciclo vital que le permita su replicación y diseminación lo que origina una *infección productiva*. El tiempo de replicación, su cinética, su capacidad de interaccionar con proteínas celulares y la posibilidad de destrucción de su huésped dependerá no sólo del tipo o subtipo de virus, sino de las interacciones con su entorno. La capacidad de los VPH de bloquear la función de las proteínas p53 y Rb, ambas reguladoras del ciclo celular con una función supresora tumoral, es exclusiva de los tipos de alto riesgo y requiere una “permisividad inmunológica” y en muchos casos, complejos procesos de integración viral e interrelación con otras proteínas del ciclo celular, lo que dará lugar a una *infección transformante*.

Tanto el reconocimiento de la infección viral por la célula huésped como el tropismo específico de cada subtipo viral van a determinar los efectos citopáticos en los tejidos específicos. Por ello, podemos distinguir *infección latente*, que no mostrará sus efectos durante largos periodos de tiempo, e *infección productiva* con efectos citopáticos prácticamente inmediatos. En base a estos parámetros podemos calificar de distinta forma el nivel inmunogénico o antigénico de cada virus, lo que servirá de base de conocimiento para el diseño de vacunas profilácticas y terapéuticas ^[10].

Hanahan y Weinberg sugirieron en el año 2000 ^[11] que las múltiples alteraciones del genoma de la célula cancerosa se manifiestan en seis características esenciales de la fisiología celular que determinan la transformación a un fenotipo maligno:

- 1.- Autosuficiencia en factores de crecimiento
- 2.-Insensibilidad a los factores de inhibición del crecimiento
- 3.-Evasión de la muerte celular programada (apoptosis)
- 4.- Capacidad de replicación ilimitada (inmortalización)
5. - Angiogénesis continuada
- 6.- Invasión del tejido y producción de metástasis.

Ilustración 5. Capacidades adquiridas en el proceso de la oncogénesis responsables de la transformación a un fenotipo maligno. (Adaptada de Hanahan D(2010))



A partir del reconocimiento de estas características se ha evidenciado la existencia de una nueva realidad biológica más amplia, clave de la oncogénesis molecular in vivo, el microambiente tumoral.

El concepto de microambiente tumoral hace referencia a un complejo sistema que rodea a las células neoplásicas. Para proseguir su desarrollo, el cáncer precisa establecer interacciones anormales entre las células neoplásicas incipientes y sus microestructuras vecinas normales, a las que recluta y modifica para que colaboren en la progresión del proceso neoplásico. Este proceso, activado por una comunicación paracrina continua, crea un conjunto de circuitos de señales dinámicas que promueven el crecimiento del tumor y lleva a última instancia a una enfermedad fatal ^[11-13]. Los diversos componentes del micrombiente tumoral incluyen fibroblastos de diversos tipos, pericitos, matriz extra-celular, diversas clases de linfocitos T, B y NK (natural Killer), células mieloides, células endoteliales además de células presentadoras de antígenos como los macrófagos y las células dendríticas de Langerhans.

2.2-TRANSFORMACIÓN CELULAR POR VPHs DE ALTO RIESGO ONCOGÉNICO

En el cuello uterino y en otros órganos se han identificado lesiones intraepiteliales que representan pasos intermedios en el proceso por el que las células evolucionan desde la normalidad a adquirir cambios neoplásicos premalignos y finalmente a cáncer invasor. Esta evolución de la oncogénesis en múltiples fases es consecuencia de sucesivas alteraciones genéticas desencadenadas por la desregulación del ciclo celular derivada de la infección por VPHs de alto riesgo (VPH –AR).

Una célula no infectada y competente en sus funciones tiene un estricto mecanismo de control que se encarga de iniciar el ciclo celular y reparar el ADN previamente en cada división celular evitando errores genéticos, inherentes al proceso de replicación y favorecidos por ciertos cofactores como el tabaco que favorecen se acumulen en el genoma celular. Cada cambio genético es controlado por un complejo sistema de control del ciclo celular y reparado con la mediación de

proteínas reparadoras como Rb y p53. Si la acumulación de errores es irreparable, la nueva célula recién formada al no poder ser “reparada” es eliminada en un proceso activo de muerte celular programada denominado apoptosis. La presencia de secuencias genómicas de VPHs de alto riesgo es considerada por el sistema de control del ciclo celular como un evento irreparable y la célula finaliza en apoptosis. El hecho de que este sistema de control provoque la muerte celular con todo su contenido viral, ha conducido al desarrollo de una estrategia defensiva, por parte de los VPH-AR, encaminada a la evasión de este proceso de control celular en las células afectadas, cuyas consecuencias llevan a una predisposición a la transformación neoplásica.

2.3.-ONCOGENES VIRALES

En esta estrategia dos regiones virales denominadas E6 y E7 de los VPH –AR, son capaces de traducir sendas proteínas del mismo nombre que tiene la capacidad de bloquear y degradar respectivamente a las proteínas del ciclo celular p53 y Rb y como consecuencia evadir la vigilancia y capacidad reparativa de las mismas sobre el ciclo celular (fig. 6). Con estas proteínas degradadas, la célula es incapaz de reparar los errores genéticos derivados de su replicación o de conducir a la célula a la muerte por apoptosis dejando en consecuencia un estado celular de susceptibilidad a la transformación neoplásica. De la capacidad de expresión de proteínas degradantes E6 y E7 de los VPHs dependerá en última instancia su capacidad de bloqueo de p53 y Rb, y esta expresión se verá modificada por factores como la carga viral, la integración del genoma viral en el genoma celular o cofactores como el tabaco y los anticonceptivos orales a largo plazo.

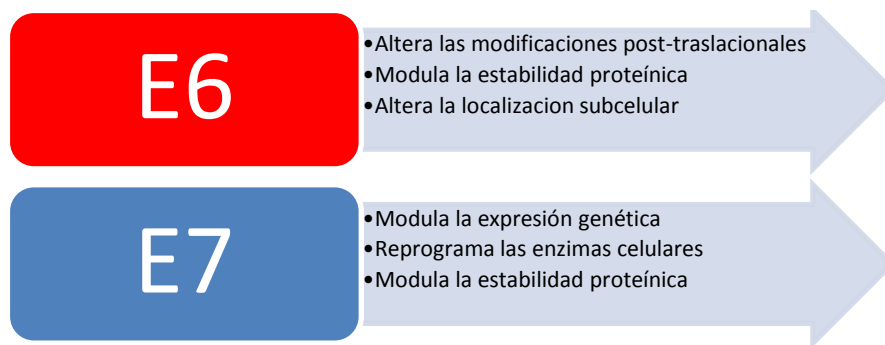
Ciertos experimentos a largo plazo han demostrado que la expresión basal de E6 y E7 en los VPHs es muy baja comparada con la proteína E2, gracias a la acción reguladora negativa de la región LCR que mantiene prácticamente silenciada la expresión de estos genes, por ello en principio no sería capaz de producir suficiente cantidad de E6 y E7 como para provocar el proceso de defensa o reparación celular. El análisis de la biología de la infección nos ha permitido demostrar que en ciertos casos y tras ocurrir un proceso de integración viral en el genoma celular, generalmente por disrupción de la región E2, la región reguladora LCR se ve afectada e impide la

represión de la transcripción de E6 y E7 con la consecuente sobreexpresión de sus proteínas oncogénicas del mismo nombre. De este modo una pequeña cantidad de virus podría producir grandes cantidades de proteína E6 y E7 bloqueando Rb y P53 de forma efectiva iniciando el proceso de transformación neoplásica ^[14, 15].

Recientemente se ha demostrado que si bien el proceso de integración viral es un evento favorecedor del proceso de transformación neoplásica, no es necesario para que se produzca la transformación de la célula ya que sin que el VPH se integre en el ADN del huésped, la célula puede transformarse por mecanismos distintos de desregulación de la expresión de E6 y E7 e incluso la expresión basal de estas proteínas, en casos de altas cargas virales, puede ser suficientes para desencadenar el inicio de una neoplasia^[16]. Queda bien demostrado, que existe un porcentaje de lesiones tumorales, no despreciable, en el que no se ha demostrado integración o bien coexisten las formas episomal e integrada.

De este modo, sea por procesos de integración o por la intervención de rutas biológicas diferentes, la pérdida de E2, represor de la transcripción viral, desregula la expresión de los genes VPH E6/E7 siendo las proteínas E6 y E7 las únicas proteínas virales que se expresan constantemente en los carcinomas cervicales. En los tumores asociados a VPHs de alto riesgo, los oncogenes E6 y E7 actúan sobre reguladores críticos de cada uno de los procesos indicados en la fig.6 y en consecuencia, estas oncoproteínas inducen cambios moleculares oncogénicos. La E7 bloquea el control del ciclo celular G1/S al degradar la proteína supresora del retinoblastoma Rb y liberar el factor de transcripción EF2. Esto motiva un inicio aberrante del ciclo que, en condiciones normales, motivaría la activación de la proteína supresora p53 y causaría la muerte celular.

Ilustración 6. Mecanismo de actuación y cambios celulares inducidos por las onco-proteínas E6 y E7, responsables del fenotipo oncogénico

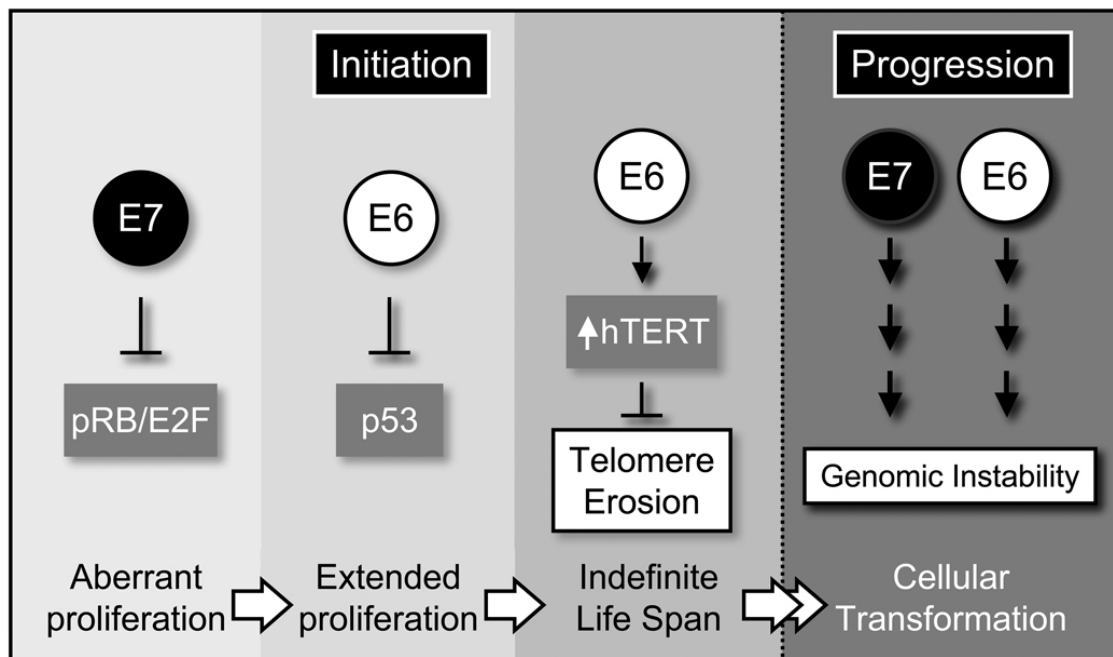


A su vez, E6 degrada la p53 permitiendo que las células experimenten una incesante proliferación. Para evitar la erosión de la telomerasa, que resultaría de la división celular continuada, la E6 activa asimismo la transcripción de hTERT (del inglés: human Telomerase Reverse Transcriptase) que causa la inmortalización de las células. E6 y E7 son potentes modificadores de las mitosis, favoreciendo la probabilidad de adquirir mutaciones celulares adicionales que contribuyen a la progresión carcinogénica.

La expresión de las oncoproteínas E6 y E7 también se ha implicado en la desregulación de otros eventos celulares como la transición del epitelio al estroma y la angiogénesis. La primera es un proceso por el que las células epiteliales adquieren ciertas características de los fibroblastos que serían el último paso de la desdiferenciación celular. Se cree que juega un papel clave en la carcinogénesis, asociada con un aumento del potencial invasivo y la producción de metastásis.

La angiogénesis es asimismo necesaria para la progresión tumoral, al asegurar el aporte adecuado y mantenido de nutrientes y oxígeno, necesarios para el crecimiento rápido del tumor. El oncogen E6 del VPH 16 ha demostrado que induce la expresión del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF, del inglés: Vascular Endothelial Growth Factor) y además aumenta la expresión de la proteína ligada al factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) que está implicado en el inicio de la angiogénesis.

Ilustración 7. Esquema de las bases moleculares de la transformación oncogénica celular por VPHs de alto riesgo. Efecto de las oncoproteínas E6 y E7 en la iniciación y progresión oncogénica



2.4.-MECANISMO DE EVASIÓN TUMORAL. LA PERSISTENCIA DE LA INFECCIÓN VIRAL.

Muchos virus son capaces de mantener infecciones a largo plazo sin efectos citopáticos, aunque con producción de viriones, bien de forma crónica o con reactivaciones productivas intermitentes. El patrón de infección, crónica o latente, y la aparición de brotes con efectos van a ser totalmente dependientes de las condiciones del huésped. La persistencia de infección viral requiere la evasión de la detección y la eliminación de las células virales por el sistema inmune. Estos procesos de evasión pueden producirse por distintas vías; en ciertos casos los virus presentan antígenos de superficie muy variables que conducen a la síntesis de un exceso de anticuerpos no neutralizantes, que pueden llegar a interferir con los que sí tienen capacidad de neutralización. Otro mecanismo es la depleción del MCH, esto se evidencia en tumores en los que no es posible mimetizar la presencia de antígenos de superficie, por ser necesarios para el mantenimiento del fenotipo tumoral ^[17, 18].

Muchas infecciones víricas toman como diana células inmuno-competentes como CD4+T y células de Langerhans, comprometiendo la eliminación de la infección al

alterar los mediadores de la respuesta inmune. También se ha detectado un descenso en la actividad de las células NK, con funciones de inmunidad específica, en lesiones premalignas y malignas.

La incapacidad del sistema inmune para resolver la infección en un plazo de tiempo corto o medio, generalmente menor de dos años aumenta las posibilidades de que exista un daño celular continuado y como consecuencia la aparición de neoplasia. La persistencia de la infección por encima de este plazo constituye un factor de riesgo demostrado y necesario para la transformación celular ^[19, 20].

3.-EPIDEMIOLOGÍA E HISTORIA NATURAL DEL HPV.

3.1.-IMPACTO DE LAS INFECCIONES POR HPV EN ESPAÑA, EUROPA Y EL MUNDO.

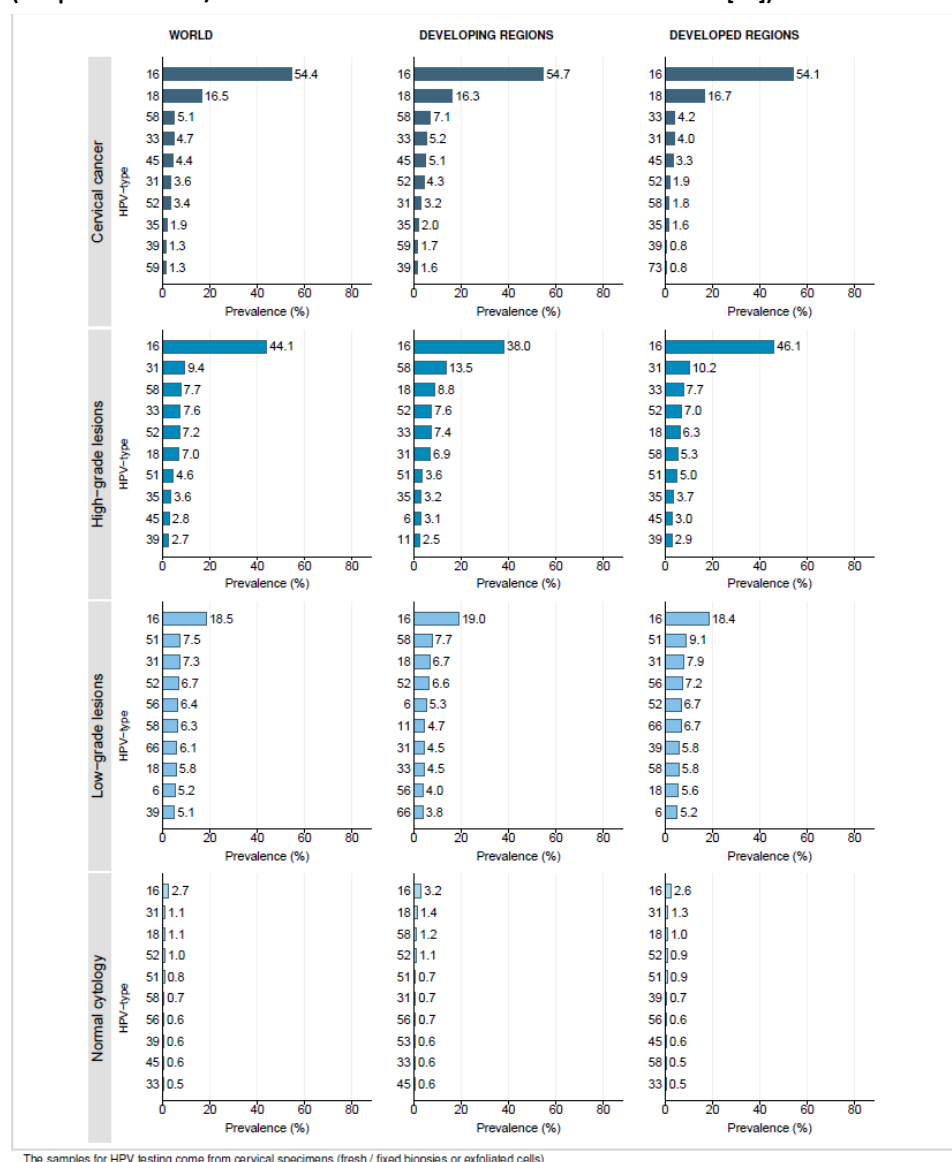
Las estimaciones más precisas y recientes que disponemos de prevalencia del VPH en España en mujeres con citología normal provienen de los análisis combinados realizados por el “WHO/ICO (OMS/ Institut Català d’Oncologia) Information Centre on HPV and Cervical Cancer”, un centro coordinado por el ICO (Barcelona) en colaboración con la OMS, cuya principal labor es integrar todos los indicadores estadísticos disponibles relacionados con el cáncer de cérvix, el VPH y su prevención y control en 193 países y cada uno de los 5 continentes (America, Asia, África, Europa y Oceanía) ^[21]. Tal y como muestra la tabla 1 la prevalencia en España es del 9%, una prevalencia similar a la estimada en Europa (9,7%) y significativamente más baja que la mundial (11,4%).

Tabla 1.Prevalencia VPH España, Europa y el Mundo.

País/ Región	Prevalencia (%) de VPH en mujeres con citología normal	Prevalencia (%) de HPV 16/18 en mujeres con citología normal	Prevalencia (%) de HPV 16/18 en mujeres con citología H-SIL	Prevalencia (%) de HPV 16/18 en mujeres con cáncer cervical
España	10.7	2.7	43.0	57.4
Europa	11.9	4.0	53.9	75.1
Mundo	13.5	5.4	52.2	72.6

Las figuras siguientes presentan la distribución de genotipos de VPH más frecuentemente detectados en mujeres con citología normal, LSIL, y HSIL, respectivamente para España, Europa y Mundo.

Ilustración 8. Distribución de los 10 genotipos de VPH más frecuentes en mujeres con cáncer de cérvix, H-SIL, L-SIL y citología normal, en España y comparativamente en Europa y el Mundo. (Adaptada de WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer[21]).



(Adaptada de WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer[21]).

El dato más relevante es la importancia del HPV 16 el cual representa el genotipo más frecuente en cada uno de los cuatro grupos de mujeres y en cada una de las tres áreas geográficas.

3.2.-DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS DEL VPH EN MUJERES CON CIN Y CANCER DE CÉRVIX

3.2.1.-VPH EN LESIONES INTRAEPITELIALES ESCAMOSAS DE BAJO Y ALTO GRADO.

Un metaanálisis de 53 estudios publicados hasta junio de 2004 incluyó un total de 8.308 casos de lesiones intraepiteliales de bajo grado (LSIL) ^{Clifford GM[22]}. La positividad para VPHs global en las LSIL osciló entre el 29% y el 100% en los estudios incluidos. Entre las 5.910 LSIL VPH positivas, el VPH 16 fue el más común (26 %), seguido de los VPHs 31 (12%), 51 (11%), 53(10%), 56 (10%) , 52(9%)66 (9%) y 58 (8%). También se detectaron muchos otros tipos de VPHs en al menos el 5% de las LSIL, lo cual pone de relieve la amplia heterogeneidad de los tipos de VPH en las lesiones de bajo grado. El VPH 16 fue el más prevalente en todas las regiones mundiales analizadas.

Un exhaustivo metaanálisis de 53 estudios publicados desde febrero de 2002 incluyó un total de 4.338 casos de lesiones intraepiteliales de alto grado (HSIL) ^[23]. Este metaanálisis ha sido actualizado recientemente para incluir más de 7000 casos procedentes de estudios publicados hasta enero de 2006. Los tipos de VPH más comunes identificados son, por orden decreciente de prevalencia: VPH 16, 31, 58, 18, 33, 52, 35, 51, 56, 45, 39, 66 y 6. Los ocho tipos más frecuentes en la HSIL son similares a los encontrados en el cáncer de cérvix, exceptuando la menor frecuencia del VPH 18 y la ausencia del VPH 45. El VPH 16 es el tipo más común en las HSIL en todas las regiones mundiales incluidas en el análisis.

3.2.2.-VPH Y CÁNCER DE CÉRVIX

Un análisis combinado de 12 estudios llevados a cabo en 25 países ha estimado la prevalencia específica de tipos de VPH en 3085 casos de cáncer de cérvix ^[23]. Se aplicó un protocolo de estudio estandarizado y determinación de ADN del VPH con PCR GP5+/6+ en un laboratorio central. La prevalencia central de ADN del VPH fue del 96%. Se estima que los VPHs 16 Y 18 son responsables del 70% de casos de cáncer de

cuello uterino a nivel mundial y los ocho tipos más comunes (VPHs 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58 y 35) son responsables del 89% de los casos.

En un exhaustivo metaanálisis de 85 estudios publicados hasta febrero de 2002 incluyendo la serie de la International Agency for Research on cancer (IARC) se contabilizaron 10.058 casos de cáncer de cérvix^[23]. Este metaanálisis ha sido recientemente actualizado incluyéndose más de 14.500 casos procedentes de estudios publicados hasta enero de 2006^[24]. Los tipos de VPH identificados con más frecuencia han sido, en orden decreciente de prevalencia, los VPHs 16,18,33,45,31,58,52,35, 59,56,51,39,6,73,68 y 82). Los VPHs 16 y 18 son responsables del 70% de los casos de cáncer de cuello uterino a nivel mundial y los ocho tipos más comunes (VPHs 16, 18, 33, 45, 31, 58, 52 y, 35).

Este metaanálisis muestra que la distribución de tipos de VPH no varía mucho entre el carcinoma escamoso y el adenocarcinoma de cérvix. Aunque los VPH 16 y 18 son los más frecuentes, entre el carcinoma escamoso y el adenocarcinoma de cérvix, la prevalencia relativa del VPH 18 es más importante en el adenocarcinoma que en el carcinoma escamoso.

3.3- FACTORES Y COFACTORES IMPLICADOS EN LA CARCINOGENÉISIS VIRAL

El proceso de carcinogénesis cervical supone la implicación de una serie de factores, de los cuales la actividad sexual ocupa el primer lugar, pues es el evento que permite la entrada del VPH en las células basales del epitelio cervical. Si la infección inicial no se resuelve y se hace persistente puede iniciarse un proceso de oncogénesis que puede inducir lesiones escamosas intraepiteliales (CIN) de varios grados CIN 1, CIN2, CIN3/carcinoma in situ (CIS), muchas de ellas reversibles, y a más largo plazo la aparición del carcinoma invasor de cuello de útero. Es importante destacar que las tasas de regresión de las lesiones CIN son muy elevadas; así el 80% de las mujeres en estadios iniciales (CIN1, LSIL) durante el primer año hasta el 90% de forma acumulada al final del segundo año, consiguen eliminar la infección y normalizar el epitelio cervical. Sólo el 20% de las lesiones CIN2/3 y CIS regresan a la normalidad.

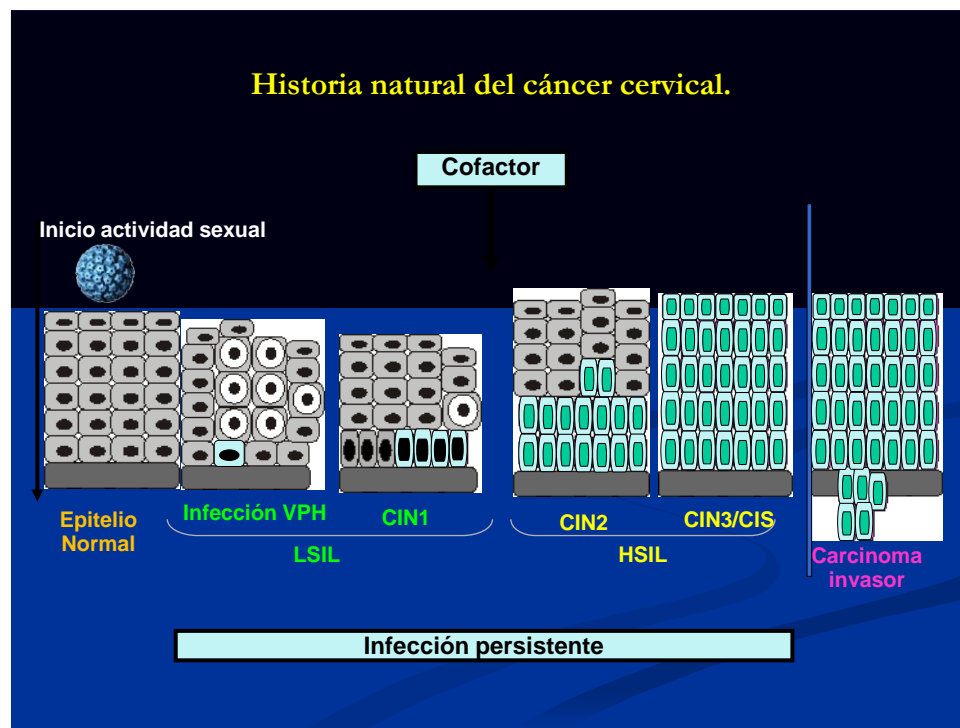
La adquisición del VPH al inicio de las relaciones sexuales es muy alta. Su tasa de transmisibilidad es la mayor de todas las infecciones de transmisión sexual no bacterianas, con un riesgo acumulado de ser VPH positivo a los 5 años de alrededor del 50% para las mujeres que se inician sexualmente.

El virus se transmite con facilidad por contacto sexual probablemente a través de erosiones mínimas de la piel o mucosas. Aunque la transmisión coital sea seguramente la vía de contagio más frecuente del cuello de útero en las mujeres con relaciones homosexuales^[25] se han presentado infecciones del área anogenital y una extensión a partir de ésta, por autoinoculación, a otra localización del epitelio anogenital, como el cuello uterino. El cuello uterino es especialmente vulnerable al contagio a través del epitelio metaplásico de la unión escamoso-cilíndrica y a la persistencia de infección. Los VPH aprovechan la dinámica celular para replicarse y en cuello se benefician de la maduración del epitelio metaplásico para expresar sus genes de forma secuencial. Los factores de riesgo más comúnmente asociados a la adquisición del HPV se pueden resumir ^[26]:

Tabla 2. Factores de riesgo asociados a la infección por HPV

1º	Inicio precoz de relaciones sexuales.
2º	Adquisición de un nuevo compañero sexual
3º	Intervalo corto entre compañeros sexuales
4º	Número de compañeros sexuales
5º	Compañero sexual masculino de riesgo: antecedente de sexo con hombres o prostitutas. Efecto protector de la circuncisión ^[27] y el uso de condón.
6º	Uso no sistemático de preservativos ^[28]
7º	Presencia de otras infecciones de transmisión sexual
8º	Tipo viral: el tipo 16 y 18 presentan mayor capacidad de progresión que el resto.

Ilustración 9. Historia natural del cáncer de cérvix



La duración media de la infección varía según las diferentes series entre 6-12^[29] meses y 20 años^[30]. La duración es mayor en los VPH de Alto Riesgo (VPH-AR) que en los de bajo riesgo (VPH-BR)^[26]. La persistencia de la infección es mucho menos frecuente que su aclaramiento. La persistencia de la infección se define como la detección del mismo tipo viral en 2 o más ocasiones durante un periodo de uno a dos años.

La infección por el VPH-AR se considera una causa necesaria pero no suficiente, de cáncer cervical. Varios estudios de seguimiento de mujeres en las que inicialmente se conocía su estado respecto a la infección por el VPH han permitido establecer el riesgo de progresión a CIN2-3. En el 4% de las mujeres que inicialmente positivas para VPH-AR se diagnosticó una CIN 3 a los 3 años y menos del 1% a los 10 años^[31].

Estos datos sugieren que hay otros cofactores que modulan el riesgo de progresión de la infección por VPH a cáncer. Los cofactores de progresión, favorecedores de la persistencia se clasifican en medioambientales, virales y del huésped.

- Cofactores medio ambientales o exógenos:

- Tabaquismo: el riesgo de cáncer de cérvix uterino en mujeres VPH positivas que a la vez son grandes fumadoras aumenta de forma consistente del orden de 2 a 3 veces frente a las mujeres no fumadoras ^[32]. El tabaco tiene un efecto carcinogénico directo y además produce alteración de la inmunidad local en el cuello uterino y eso ayuda a cronificar la infección.

- Anticoncepción hormonal (ACHO): el riesgo de cáncer de cérvix uterino en mujeres VPH positivas que han utilizado ACHO por períodos extensos aumenta de forma consistente del orden de 2 a 3 veces comparado con las mujeres no usuarias. Se estima que 10 años de uso de ACHO entre los 20 y los 30 años produce un aumento de la incidencia acumulada de cáncer de cérvix a los 50 años de entre el 7,3 y el 8,3% en países menos desarrollados, y del 3,8 al 4,5% en países desarrollados ^[33].

El consumo de anticonceptivos orales actúa como cofactor pues aumenta la expresión de E6 y E7 del VPH. Los estrógenos favorecen la proliferación de las lesiones ya establecidas. Los gestágenos pueden estimular la expresión viral. Los estrógenos y gestágenos de los contraceptivos inhiben la apoptosis a nivel cervical y modifican la respuesta inmunitaria local, lo que facilitaría la carcinogénesis, sobre todo si el consumo es superior a los 10 años. El riesgo disminuye 8 años después de haberlos suspendido.

- Infecciones asociadas del tracto genital inferior (TGI): la infección simultánea por *Chlamydia Trachomatis* duplica el riesgo de persistencia de los tipos de alto riesgo de VPH de forma independiente de otros factores asociados al comportamiento sexual, aunque esta asociación no es siempre consistente ^[34].

- Multiparidad: en mujeres VPH positivas con antecedente de 5 embarazos o más se multiplica por 3 el riesgo de presentar CIN 3 o cáncer invasivo en relación con mujeres con paridad inferior a 5 embarazos ^[35].

- Factores nutricionales: aunque la evidencia es muy limitada para establecer conclusiones firmes, se considera que la ingestión de alimentos antioxidantes, como frutas y vegetales se relacionan con la disminución del riesgo de cáncer de cuello de útero. La asociación es más consistente sobre todo con la ingestión de vitaminas C, E, A y carotenos. La ingestión en la dieta de folatos, vitamina B6 y B12 puede estar también implicada en la carcinogénesis cervical. No obstante no existen conclusiones definitivas que relacionen dieta, VPH y cáncer de cuello de útero ^[36].

- Cofactores virales:

- Tipo de VPH: es el factor de riesgo más importante de persistencia viral y de progresión hacia una lesión preinvasiva, siendo los genotipos 16 y 18 los que presentan mayor riesgo. El tipo 16 presenta un riesgo acumulado de producir CIN 2 o superior, a 10 años, de algo más del 20 %; frente al 17 % del tipo 18. El resto de los tipos de alto riesgo de VPH, de entre el 1 y el 2 % ^[37].

- Variantes del VPH: el conocimiento de mínimas variaciones en la secuencia de bases del ADN del VPH ha permitido identificar las variantes. Las variantes del VPH 16 muestran diferencias geográficas que se han relacionado con distintos tipos de cáncer y las variantes no europeas están asociadas con un mayor riesgo ^[38]. Se sugiere que las variantes pueden influir en la historia natural de la infección por dos mecanismos: diferencias en su capacidad funcional o evasión del sistema inmunitario del huésped. Dadas las diferencias geográficas es posible que su papel en la persistencia y la progresión esté relacionado con polimorfismos inmunogenéticos.

- Carga viral: cargas virales bajas se asocian a un menor riesgo de progresión a lesiones preneoplásicas, pero algunas cargas virales muy altas se asocian a CIN 1, con alto potencial regresivo. La importancia pronóstica de la carga viral no está establecida ^[10].

- Coiinfección: en 1 de cada 4 mujeres infectadas se detecta presencia de más de un tipo viral. No está claro si esta presencia múltiple interfiere en la persistencia de un tipo de VPH determinado o en su progresión Moscicki AB^[39]. Algunos autores han evidenciado que la tasa de aclaramiento es independiente de la coinfeción con otros tipos virales, al menos en mujeres inmunocompetentes, la evidencia más reciente apunta a que los genotipos que coinfectan el cérvix actúan de forma independiente en el desarrollo de las lesiones cervicales.

- **Cofactores del huésped:**

- Inmunosupresión: Las mujeres VIH positivas presentan riesgo incrementado de desarrollar ciertos cánceres, especialmente los relacionados con la infección por VPH, con menor intervalo de desarrollo del proceso oncogénico. En esas pacientes se ha comprobado a nivel cervical la disminución de linfocitos CD4 y la inversión CD4/CD8, así como la disminución de linfocitos natural Killer. Dicha alteración de la inmunidad facilitaría la integración de ADN viral del VPH ^[40].

La inmunosupresión en pacientes con trasplante renal se asocia a un mayor riesgo de cáncer cervical seguramente mediado por una respuesta inmune deficiente que, al igual que ocurre con el VIH, facilitaría la persistencia de las infecciones de VPH. En una serie de 48 transplantados renales 20 (41,6%) tenían neoplasias genitales ^[41].

3.4.-EVOLUCIÓN DE LA CONDUCTA DE LA MUJER EN ESPAÑA.

El estudio AFRODITA es un amplio estudio transversal de base poblacional, diseñado para estimar el grado del uso de la citología cervical preventiva en España, así como la prevalencia de indicadores sociodemográficos, reproductivos, de conducta sexual y del conocimiento de la mujer sobre la infección por VPH, el cribado y el cáncer de cérvix ^[42]. El estudio incluyó una muestra de 6852 mujeres entre 18 y 70 años representativa por comunidades autónomas, edad, nivel socio económico y tamaño del municipio.

El comportamiento sexual de las mujeres españolas muestra una importante variabilidad con la edad. Así el porcentaje de monogamia disminuye inversamente con la edad, pasando de un 90,1% en mujeres de más de 56 años a un 57,8% en mujeres de entre 26 y 35 años. Así mismo el porcentaje de mujeres con 2-4 parejas sexuales se ha multiplicado por 4. Los datos confirman la tendencia a iniciar relaciones sexuales más precozmente en las mujeres más jóvenes. La media de edad de la primera relación sexual se ha reducido en 5,6 años: de 23.8 años en las mujeres de 56-70 años a 18.2 en las mujeres de 18-25 años. El porcentaje de mujeres que iniciaron su primera relación sexual antes de los 17 años se ha multiplicado por 12: de 1.4% en las mujeres de 56-70 años a 16.7 % en las mujeres de 18-25 años.

4.-DIAGNÓSTICO MOLECULAR DEL VPH.

4.1.-TEST DEL ADN DE VPH.

La detección de ADN del VPH mediante técnicas de Biología Molecular, independientemente del método utilizado, se basa en la especificidad de la complementariedad entre los ácidos nucleicos. Una secuencia de ADN tiene la capacidad de hibridar específicamente con otros ADNs o ARNs de modo tan específico que a una determinada temperatura solamente se formarán híbridos si el 100% de las bases son complementarias. El modo de detección de estos híbridos, la composición de las sondas de ADN y la existencia o no de amplificación de la señal marcarán las diferencias entre las distintas técnicas.

4.1.1. -HIBRIDACIÓN EN SOLUCIÓN: CAPTURA DE HÍBRIDOS.

Este método utiliza sondas de ARN que tiene la capacidad de hibridar con el ADN viral en solución y ser detectados mediante métodos luminiscentes. Los modernos comerciales como el denominado Hybrid Capture 2[®] (HC2), a diferencia de las versiones anteriores que estaban consideradas como subóptimas, tienen una adecuada relación entre sensibilidad y especificidad si se establecen límites de señal lumínica.

La utilización de un cocktail de sondas de alto riesgo, la última versión incluye 13 tipos de HPV-AR (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68) y 5 tipos de bajo riesgo

(6,11,42,43,44). Tiene como ventaja la posibilidad de semicuantificar la carga viral, aunque esta cuantificación solamente indica un número de copias virales y no puede ser corregida en función del número de células obtenidas en la toma. El inconveniente principal es que no permite distinguir entre los diferentes tipos virales ni la presencia de infecciones múltiples y varios estudios refieren una menor especificidad debido a la reacción cruzada entre las sondas de alto riesgo y ciertos tipos virales de bajo riesgo ^{[43], [44]}.

4.1.2 -SISTEMAS BASADOS EN LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

La PCR usa pequeñas sondas de ADN que localizarán específicamente secuencias de ADN viral denominadas cebadores o primers. Permite la amplificación en cadena de la región de interés que luego puede ser visualizada por distintas técnicas (ELISA, electroforesis, detección láser, etc.) con gran eficacia. Combina la especificidad de la unión de los dos primers y la sensibilidad que resulta del proceso de amplificación (detección real de 10 copias de ADN viral entre 1 millón de células) ^{[45], [46]}.

Existen dos alternativas fundamentales para la detección de VPH basadas en la PCR convencional. En primer lugar, y como método más utilizado, la PCR de regiones de consenso, en la cual se amplifica una región con secuencia muy similar entre todos los VPHs para, posteriormente, por métodos de hibridación específica, enzimáticos o de secuenciación de ADN, realizar la tipificación específica del virus. El método más popular es el que usa la región común L1 utilizando los primers MY09 y MY11. Se han sintetizado nuevos primers con aumento de la sensibilidad y especificidad de detección viral como GP5+ /GP6+. La PCR específica está basada en el diseño de primers específicos para tipos, subtipos y variantes virales y permite ajustar las condiciones de la reacción a sensibilidades de femtogramo, con especificidades que rodean el 100%.

Es importante saber que la exactitud analítica y clínica. Analíticamente el objetivo del test es la identificación del VPH-AR mientras que clínicamente el objetivo es la identificación de la enfermedad neoplásica: CIN2, CIN3, cáncer invasor o adenocarcinoma in situ o invasivo (CIN2+) ^[47]. Para que el test de VPH pueda ser

utilizado correctamente en cribado deben seguirse unas directrices que minimicen el número de falsos positivos clínicos (test negativo en presencia de CIN 2+) y falsos negativos clínicos (test negativos en presencia de CIN 2+). Los dos test de ADN-VPV validados para uso de cribado (HC2[®] y PCR GP5+/6+) han mostrado repetidamente sensibilidades clínicas del 90-95 % para CIN 2+.

4.2.-OTROS MARCADORES MOLECULARES: ANÁLISIS DE LA PRESENCIA DE PROTEÍNAS ONCOGÉNICAS

La cantidad de proteína oncogénica, traducida “in vivo” en la célula depende de múltiples factores: tipo viral, cantidad de virus (carga viral), tasa de transcripción de ARN, presencia de moduladores de transcripción (corticoides, hormonas, etc....), integridad del ADN, activación o inactivación de promotores y reguladores.

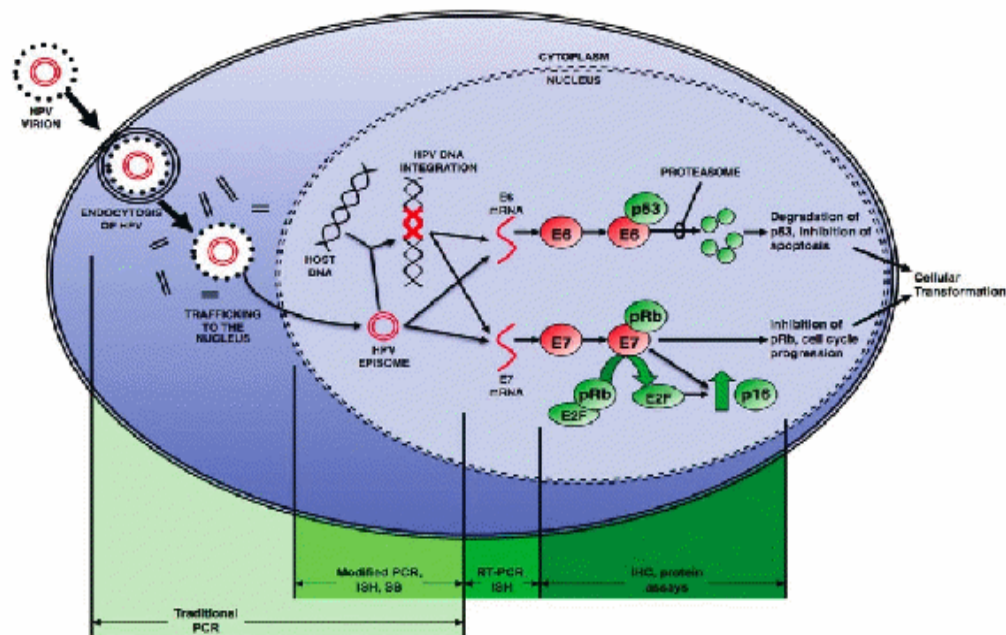
Aunque el virus permanezca de forma no integrada es decir episomal está conservada invariablemente la producción de proteínas oncogénicas E6 y E7 con independencia del tipo viral que la codifique. De este modo salvo discretas excepciones, la forma episomal expresa cantidades constantes de E6 y E7 una vez que la infección se hace persistente. La forma integrada, la desaparición de la región E2 de VPH-AR, actúa sobre los promotores de E6 y E7 desregulándolos positivamente incrementando la producción de ARN mensajero y la traducción de este a proteínas oncogénicas. Las actuales técnicas de determinación de proteína oncogénica incluyen técnicas de cuantificación de ARN mensajero y no de ADN. La cuantificación del ARN mensajero de E6 y E7 es por tanto un marcador de la expresión proteica de E6 y E7. Su detección es un indicador de la integración y expresión de estos genes y permite identificar células con potencial real de transformación.

- Proteína p16 INK4a.

La proteína p16 es un inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina que muestra una marcada sobreexpresión en el tejido precanceroso y canceroso, lo que lo convierte en un candidato ideal como marcador de la enfermedad. La proteína del retinoblastoma (RB) en condiciones normales se une al factor de transcripción E2F, bloqueando la transcripción de genes que estimulan la progresión del ciclo celular y su

proliferación, pero también la codificación del gen para el inhibidor de la quinasa dependiente de la ciclina p16. La infección crónica con VPH-AR puede dar lugar a un trastorno del complejo proteínico funcional R-EF2. La proteína oncogénica E7 se une a Rb favoreciendo la inmortalización del ciclo celular

Ilustración 10. Mecanismo molecular de la sobreexpresión de P16



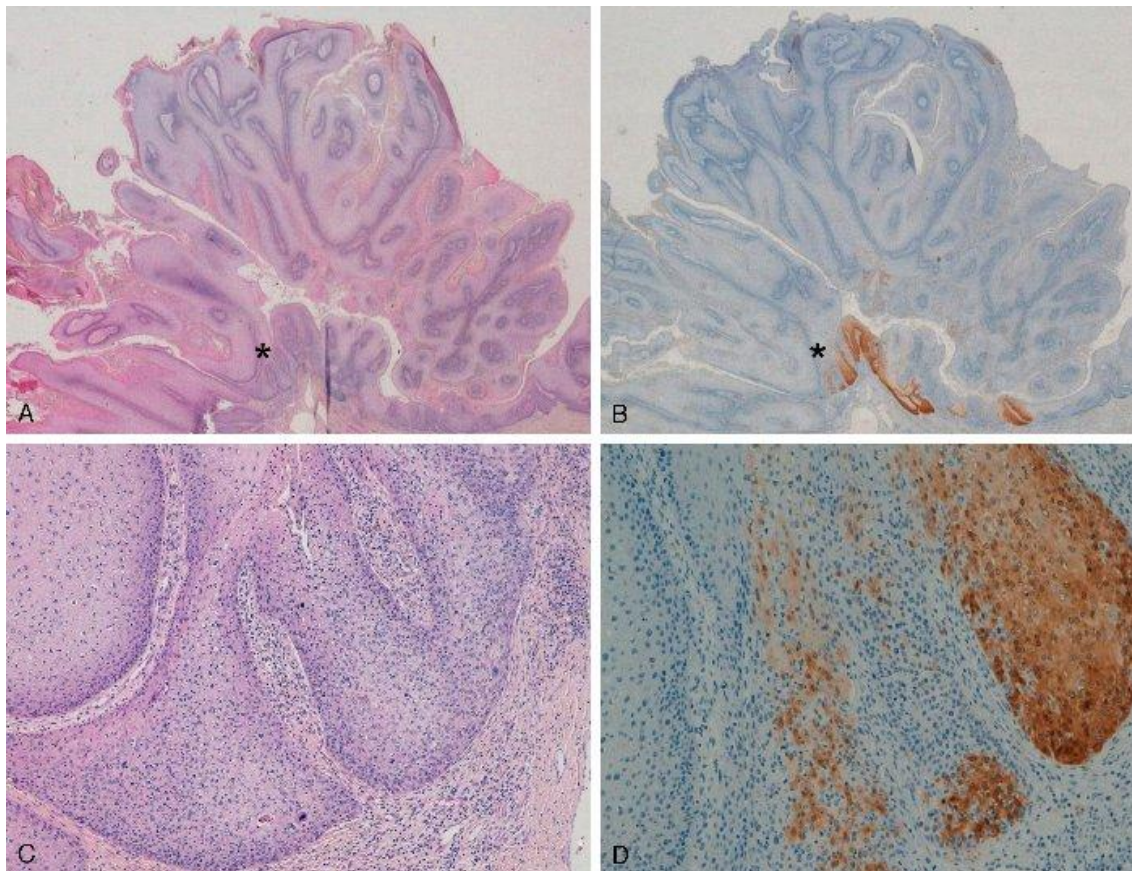
La sobreexpresión de la proteína p16 al ser fácilmente detectable por tinción inmunohistoquímica, sirve como biomarcador que puede permitir identificar de forma inequívoca las células con cambios displásicos en proceso de oncogénesis cervical inducida por VPH-AR, pero que no depende del tipo de HPV. La inmunotinción se ha aplicado también para el estudio de frotis citológicos. En ellos tiene una doble función, localizar células anormales y permitir una interpretación de sus características morfológicas. Al comparar la P16 con el test de DNA se ha evidenciado una sensibilidad similar pero un incremento de la especificidad para detectar lesiones de alto grado subyacentes en el grupo de mujeres con resultados en la citología de ASC-US y LSIL ^[48].

4.3.-NUEVOS MARCADORES MOLECULARES: TINCIÓN DUAL Y MARCADORES DE METILACIÓN

4.3.1.-TINCIÓN DUAL P16/KI-67.

La proteína Ki 67 es un marcador molecular asociado a la proliferación celular. La detección simultánea de p16 y Ki-67 en una misma célula indica desregulación del ciclo celular por infección por VPH-AR.

Ilustración 11. Imágenes de tinción dual.



La tinción dual tiene una mayor sensibilidad que la citología, similar a la sensibilidad de los test de VPH, pero con un significativo aumento de la especificidad. Es independiente de la edad. Esto reduce el número de colposcopias innecesarias sin perder sensibilidad para CIN 2+.

4.3.2.-MARCADORES DE METILACIÓN

El ADN presenta regiones ricas en dinucleótidos CPG llamadas “islas CpG” (abreviatura de “-C--phosphate-G”, es decir, citosina y guanina separadas por un fosfato), que son reconocidas por las enzimas ADN-metil-transferasas, las cuales, durante la replicación del ADN metilan las citosinas de la nueva cadena sintetizada manteniéndose así la memoria del estado metilado en la molécula hija del ADN. Los genomas de las células preneoplásicas, cancerosas y envejecidas comparten tres cambios en la metilación. La hipometilación de la heterocromatina que conduce a una inestabilidad genómica e incrementa los eventos de recombinación mitótica; segundo la hipermetilación de genes individuales y finalmente hipermetilación de las islas CpG de genes constitutivos y genes tumorales. El análisis de la metilación de ciertos genes como PAX1 junto con la detección de VPH se ha demostrado que puede incrementar hasta en un 20% la sensibilidad diagnóstica para CIN 2+^[49], aunque otros autores no han confirmado su utilidad como marcador precoz se requieren más estudios.

5.-PREVENCIÓN PRIMARIA DEL CÁNCER CÉRVIX.

Ensayos clínicos con dos prototipos de vacunas profilácticas han demostrado su eficacia en la prevención de infecciones cervicales incidentes, transitorias y persistentes causadas por los VPH 16 y 18 así como las alteraciones citológicas y las lesiones cervicales asociadas a dichos virus.

5.1. PARTÍCULAS SIMILARES AL VIRUS: VLPS (VIRUS LIKE PARTICLES).

Las vacunas profilácticas utilizan como inmunógenos los antígenos de la cápside. Mediante ingeniería genética y sistemas de recombinación, utilizando células eucariotas a las que se ha insertado un fragmento de DNA, se sintetizan proteínas del antígeno mayor de la cápside L1 que poseen la capacidad intrínseca de autoensamblaje, formándose partículas semejantes a virus o pseudovíricas denominadas VLPs. Las VLPs están desprovistas de ADN, por lo que carecen de capacidad infectiva, pero son antigénicamente semejantes a los viriones y resultan ser altamente inmunogénicas cuando son presentadas al sistema inmunitario. Al no contener material genético, no pueden causar infección al huésped.

Ambas vacunas muestran una elevada inmunogenicidad, más de 40 veces los títulos de anticuerpos alcanzados por la infección natural, con tasas de seroconversión cercanos al 100%. El título de anticuerpos presenta un acmé tras la tercera dosis vacunal, al séptimo mes, con un descenso progresivo hasta los 18 meses, estabilizándose posteriormente en un nivel superior obtenido mediante la infección natural. Este hecho es relevante ya que el título de anticuerpos inducidos por la infección natural, en ocasiones, no asegura protección frente a nuevas infecciones.

La calidad de la respuesta inmune generada por las VLPs implica el mantenimiento del elevado título de anticuerpos a lo largo del tiempo. Existen dos modelos de vacunas VPH-VLP L1 que se han desarrollado comercialmente y se han evaluado en ensayos clínicos:

Vacuna VPH 16/18 o bivalente (Cervarix®) desarrollada por GlaxoSmithKline (GlaxoSmith Kline Biological, Rixensart, Belgium). Dicha vacuna contiene VLPs no infecciosos producidos por DNS recombinante y utiliza como adyuvante el AS04 que contiene MLP (lipopolisacárido detoxificado obtenido de Salmonella Minnesota) absorbido en hidróxido de aluminio hidratado e incluye VLPs de los tipos 16 (20 µg) y 18 (20 µg). Dicha vacuna se administra por vía intramuscular 0,5 ml a los 0,1 y 6 meses.

Vacuna VPH 6/11/16/18 o tetravalente (Gardasil®) desarrollada por Merck & Co. Inc., West Point, Pennsylvania, USA. Se trata de una vacuna recombinante no infecciosa preparada a partir de partículas similares al virus (VLPs) altamente purificadas de la proteína mayor de la cápside L1 y adyuvada con hidroxifosfato sulfato de aluminio amorfo. Dicha vacuna contiene VLPs de los tipos 6 (20 µg), 11(20 µg), 16(20 µg) y 18 (20 µg) del VPH y se administra vía intramuscular 0,5 ml en 3 dosis a los 0,2 y 6 meses.

Ambas vacunas son sustancialmente diferentes, no sólo en lo que respecta a la composición de los tipos de VPH, la carga antigénica y el adyuvante sino también en cuanto al sistema de expresión de las VLPs, así como la conformación de las mismas, esto es, presentan diferentes epítomos. Dichas vacunas frente al VPH inducen concentraciones elevadas de anticuerpos neutralizantes en plasma que migran desde el suero hasta la mucosa cérvico-vaginal mediante trasudación o exudación, y

bloquean a los VPHs impidiendo la infección de las células nucleadas de la membrana basal ^[50].

La vacuna bivalente ha demostrado una elevada eficacia (>98%) frente a CIN2+ tanto en mujeres de acuerdo con el protocolo como en la cohorte total de vacunación naïve (al menos 1 dosis sin exposición previa al VPH vacunal), teniendo en cuenta los tipos de VPH causales de la lesión. La alta frecuencia de la infección múltiple (> del 60%) obligó a un análisis de causalidad para atribuir los tipos de VPH responsables de la lesión ^{[51],[52]}.

La eficacia de la vacuna tetravalente en la población por protocolo (3 dosis, sin desviaciones del protocolo y naïve a los tipos de VPH incluidos) frente a CIN 2/3, adenocarcinoma in situ, VIN 2/3, VAIN 2/3, CIN1 y condilomas en genitales externos es superior al 95% ^[53-55]. Ambas vacunas han demostrado una elevada eficacia profiláctica (>del 95%, especialmente en mujeres no expuestas). Dichas vacunas no han demostrado valor terapéutico.

El impacto de la protección cruzada de Cervarix® frente a VPH 31, 45, ^[56] y otros tipos oncogénicos, puede suponer una reducción del cáncer cervical superior al 80% (en el adenocarcinoma > del 95%). La eficacia global en la prevención de CIN 2+ causado por cualquier tipo de VPH, en los programas de vacunación organizados, esto es, CTV-naïve se ha estimado en 70,2% para Cervarix® y 42,7% para Gardasil® ^{[51], [57]}.

El impacto de Gardasil® sobre las tasas de los procedimientos definitivos de tratamiento de lesiones cervicales independientemente de los tipos del VPH causales. En la población naïve al VPH Gardasil® redujo la proporción de mujeres que se sometieron a un procedimiento definitivo de tratamiento cervical (Procedimiento de Escisión por Asa Diatérmica o Conización) en un 41,9% y en la población ITT la reducción correspondiente fue del 23,9%. En el análisis al cierre del estudio, Cervarix® redujo los procedimientos terapéuticos definitivos (incluyendo la conización por asa diatérmica, conización con bisturí frío y procedimientos láser) en un 70,2% en la CTV-naïve y un 33,2% en la CTV.

La instauración de programas de vacunación con buenos niveles de cobertura no permitirá prescindir de los programas de cribado del cáncer de cuello uterino la principal razón es que la vacuna no protege contra todos los VPHs oncogénicos. Además los programas de vacunación se dirigen preferentemente a mujeres jóvenes, por tanto se debe mantener la estructura del cribado. En España las tasas de vacunación no han alcanzado el seguimiento esperado de ahí las nuevas recomendaciones surgidas en 2012 ^[58, 59].

Tabla 3.Recomendaciones de vacunación frente al VPH Cortés Bordoy, J (2007)

<p>1.- Niñas de 9-14 años: máxima prioridad por su máximo potencial preventivo (Evidencia 1 A):</p> <ul style="list-style-type: none"> a) Elevada inmunogenicidad en este rango de edad, mayor que en edades posteriores. b) No exposición previa al VPH y, por tanto, máximo potencial preventivo. c) Alto riesgo de adquisición precoz de VPH desde el inicio de actividad sexual. d) Mayor riesgo de lesiones cancerígenas cuanto más precoz sea la exposición al VPH: e) Mayor accesibilidad y cumplimiento vacunal. <p>2.- Mujeres hasta los 25/26 años: alto potencial preventivo (evidencia 1 A)</p> <p>3.- La mayoría de las mujeres sexualmente activas, fuera de los programas de vacunación sistemática pueden beneficiarse de la vacunación por (Torné Bladé, A)</p> <ul style="list-style-type: none"> a) Riesgo significativo de adquirir nuevas infecciones HPV y de mayor persistencia viral que aumenta con la edad. b) Eficacia vacunal preventiva muy alta (>del 90%). c) Buen perfil de seguridad, comparable al de las cohortes de vacunación sistemática. <p>4.- Las mujeres adultas sin infección previa o actual por los tipos vacunales (población naïve) tienen el máximo beneficio vacunal.</p> <p>5.- Las mujeres adultas con infección por alguno de los tipos vacunales obtienen alta protección frente al resto de tipos.</p> <ul style="list-style-type: none"> a) La vacuna no tiene efecto terapéutico: no modifica el curso de las infecciones existentes. b) La coinfección por los tipos vacunales (16 y 18) en mujeres mayores es extremadamente rara (<del 1%). <p>6.-Las mujeres con infecciones por VPH previas y aclara miento viral (ADN negativas) pueden protegerse de la reinfección y reactivación.</p> <p>7.- Hay ciertas evidencias de que la vacunación en mujeres sometidas a tratamiento de lesiones cervicales reduce el riesgo de segundas lesiones:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) Las mujeres con lesiones cervicales tratadas constituyen un grupo especialmente susceptible de desarrollar nuevas lesiones e incluso cáncer cervical. b) Los beneficios esperados de la vacunación en las mujeres tratadas son: <ul style="list-style-type: none"> - Lesión producida por tipos no vacunales: protección de nuevas lesiones por tipos vacunales. - Lesión producida por alguno de los tipos vacunales: protección frente al otro tipo y parcialmente frente a otros tipos no vacunales (protección cruzada).

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">- Lesión producida por tipos vacunales y aclaramiento postratamiento: protección frente a la reinfección/reactivación frente al mismo tipo vacunal |
|--|

6.-PREVENCION SECUNDARIA DEL CANCER DE CÉRVIX. CRIBADO.

El objetivo del cribado del cáncer de cérvix es la detección de las lesiones intraepiteliales de alto grado (CIN 2-3), cáncer microinvasor y AIS. Para conseguir una disminución de la mortalidad, debe alcanzarse una cobertura máxima y continuada del 70% de la población.

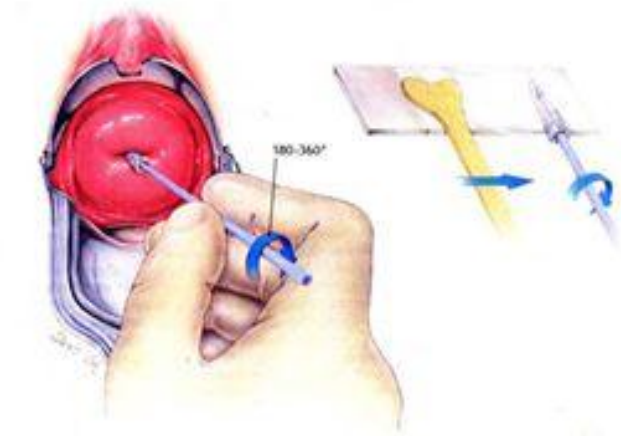
Una técnica de cribado no es una técnica diagnóstica y debe cumplir los siguientes criterios: simple, aceptable, no dolorosa, segura, validada y barata.

6.1. CITOLOGÍA

La prevención secundaria del cáncer de cuello de útero se introdujo a mediados del siglo pasado, mediante la citología del Papanicolau. En España fallecen 2 mujeres cada día por cáncer de cuello uterino, el 80% de las mujeres españolas que desarrollan un cáncer cervical es por no haber practicado un cribado citológico adecuado ^[60].

La citología ha demostrado su capacidad para reducir la tasa de cáncer de cuello de útero cuando se aplica de forma programada, sistemática y continuada. La citología de Papanicolaou consiste en la toma, observación e interpretación de una muestra de células de cérvix. Esta prueba detecta cambios inflamatorios, infecciosos o la presencia de células anormales y neoplásicas. De la citología cervical no debe esperarse un diagnóstico sino un resultado normal o anormal. Es una técnica barata y de fácil ejecución.

Ilustración 12. Citología cervical.



Los programas organizados de cribado poblacional mediante la citología han demostrado su efectividad al disminuir la incidencia y mortalidad por cáncer de cuello uterino en los países donde se han aplicado de forma masiva. En los últimos 50 años el cribado citológico ha reducido la morbi-mortalidad por cáncer cervical en 75-80% en los países donde se ha aplicado con una estrategia poblacional con cobertura suficiente y continuada ^[61].

La Unión europea, La American Cancer Society (A.C.S.)^[62] y el American College of Obstetrician and Gynecologist(ACOG) ^[63] recomiendan la citología como técnica de cribado para el carcinoma de cérvix, siendo su principal limitación su baja sensibilidad.

Las citologías deben ser interpretadas y por lo tanto están sujetas a error. En la actualidad el sistema de clasificación más usado es el de Bethesda ^[64] en 2001 en la que no sólo se clasifican los hallazgos sino que se requiere la valoración de la muestra, es decir si es o no adecuada.

La verdadera innovación de esta clasificación consiste en considerar a las alteraciones celulares por VPH como lesiones intraepiteliales de bajo grado (LSIL), displasia leve o CIN1, además de unificar bajo el término de lesiones intraepiteliales de alto grado (HSIL) a las displasias moderadas y severas, CIN 2 Y CIN 3 o carcinoma “in situ”.

Según los últimos estudios de laboratorios europeos y norteamericanos ^[65] la sensibilidad de la citología para detectar CIN 2 + es muy variable con una media del

53% con un rango del 18.6% al 76,7%. La sensibilidad depende de la calidad de la muestra obtenida en la unidad de toma y de la lectura e interpretación subjetiva en el laboratorio. La repetición periódica del cribado citológico puede corregir este déficit.

La especificidad de la citología es baja, debido al elevado número de lesiones de bajo grado que requieren estudio diagnóstico o seguimiento. Han surgido técnicas alternativas para mejorar la sensibilidad de la citología:

- Pruebas citológicas automatizadas: los más conocidos son el AutoPap® y el PapNet®, ambos consisten en un sistema computerizado para la lectura de citologías, previamente evaluadas de forma manual. Esta técnica posee una alta sensibilidad (96%), además de reducir la carga de trabajo en el laboratorio. Por el contrario, añade un coste económico adicional y se ha mostrado muy poco sensible para reconocer células endocervicales.
- Citología en medio líquido: las células exfoliadas se suspenden y fijan en un medio líquido, eliminando artefactos. Permite una mejor y más cómoda lectura del extendido evitando los “no valorables”. Una revisión sistemática de los trabajos publicado por Arbyn y colaboradores ^[66] ha concluido que la citología en medio líquido no mejora la sensibilidad de la citología convencional ^[67, 68], su principal ventaja es poder utilizar el medio conservante para análisis moleculares, como el ADN de VPH.
- Test de VPH: Ya se ha explicado en otro capítulo las distintas técnicas de detección de ADN del VPH.

La sensibilidad limitada de la citología justifica un estricto control de su calidad y la necesidad de su repetición frecuente. Es interesante reseñar que al aplicar conjuntamente las dos técnicas aumenta la sensibilidad considerablemente. Pero la citología se ha mostrado inefectiva para la reducción de la incidencia y mortalidad del adenocarcinoma de cáncer de cuello de útero.

La sensibilidad de la citología aumenta con la edad, el 79% en mayores de 50 años frente al 55% en las de 39-49 años y el 48% en menores de 35 años. La sensibilidad de test de VPH es independiente de la edad.

La especificidad de ambas pruebas aumenta con la edad, el 94% en >35 años frente al 97% en mayores de 50 años. La baja especificidad del test de VPH en las mujeres jóvenes se debe a la alta prevalencia de la infección en gente joven. La International Agency for Research on Cancer (IARC) ha confirmado que existe suficiente evidencia sobre la utilidad de la prueba de VPH para reducir la incidencia y la mortalidad por cáncer de cérvix y que es probable que sea al menos tan efectiva como la citología^[69].

Así que quedan definidos como Test sensible: VPH y como test específico: citología. La detección de VPH-AR es significativamente más sensible que la citología cervical para identificar mujeres con lesiones CIN 2 +. La prueba de VPH es menos específica que la citología para mujeres jóvenes, pero en mujeres de 30 o más años las diferencias en la especificidad entre ambas técnicas son mínimas.

La utilización conjunta de la prueba de VPH y la citología en el cribado tiene su justificación en el elevado VPN. Las mujeres negativas para ambas tienen un riesgo inferior a 1 entre 1.000 de estar afectadas de un CIN 2 + no detectado.

En mujeres mayores de 30 años, el cribado con prueba de VPH y la selección de los casos VPH positivos con citología es más específico que la citología convencional y disminuye el número de colposcopias. La prueba de VPH no debe repetirse en un intervalo inferior a 12 meses.

6.2. PROTOCOLO DE CRIBADO DE CÁNCER DE CÉRVIX.

El año 2006 se alcanzó en España un consenso para el cribado del cáncer cervical, en el que participaron las Sociedades Españolas de Ginecología y Obstetricia (SEGO), de citología (SEC), de Anatomía Patológica (SEAP) y Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC)^[70]. En el año 2010 el protocolo fue modificado con la intervención de la SEGO, AEPCC, SEC y SEAP^[71].

Como consecuencia de la incorporación de la vacuna a nuestro calendario vacunal a las niñas de 14 años de forma sistemática y la indicación clara en mujeres jóvenes hasta los 25/26 años, hay 2 preguntas claves que debemos de incorporar en nuestra actividad clínica diaria para la prevención integral del cáncer de cuello de útero.

1.- ¿Está vacunada frente al VPH?

2.- ¿Se ha practicado en los últimos 3 años una citología?

En función de ellas se elabora el siguiente algoritmo como recomendación de la SEGO en 2010 para cribado poblacional en mujeres vacunadas.

Ilustración 13. Cribado Cáncer de Cérvix en mujeres no vacunadas Puig Tintoré, LM (2006)

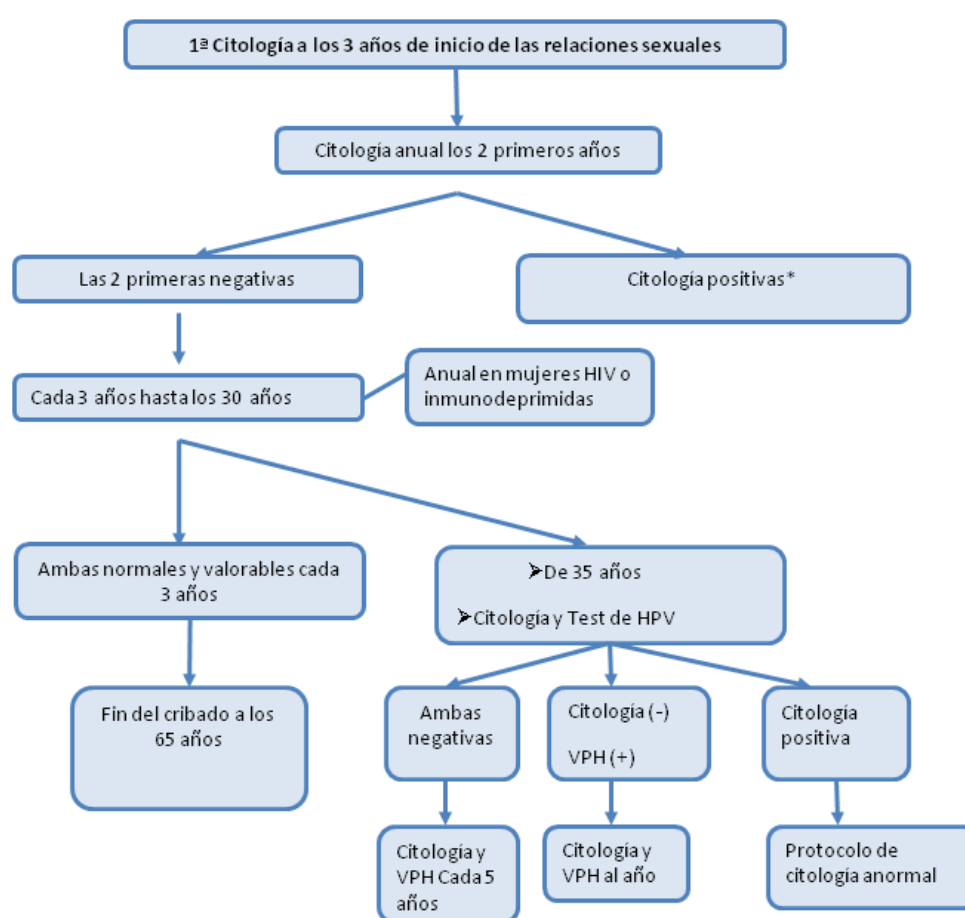


Ilustración 15. Prevención primaria y secundaria de los cánceres de cuello de útero vulva: recomendaciones para la práctica clínica. Adaptado de Cortés y cols (2010).

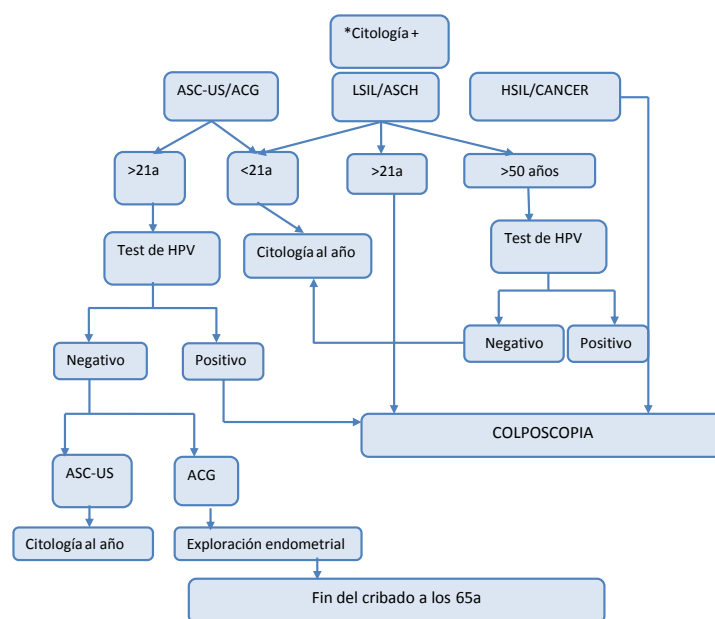
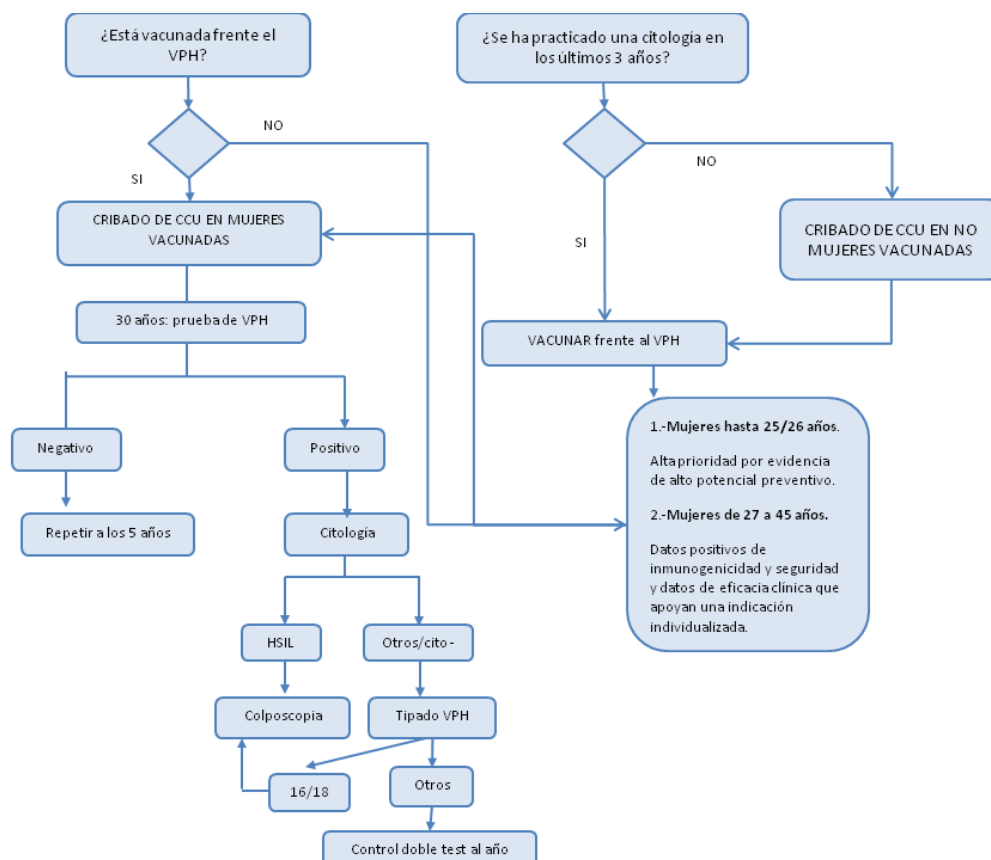


Ilustración 14. DOS PREGUNTAS CLAVES EN LA PREVENCIÓN DEL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO



6.3.-COLPOSCOPIA.

Esta técnica consiste en la visualización del tracto genital inferior mediante un microscopio binocular con una potente fuente de luz centrada sobre el campo de exploración. Fue creada y desarrollada por Hans Hinselman (Hamburgo -1925). Permite identificar la topografía y la extensión de las lesiones precancerosas, localizar las áreas más sospechosas donde practicar la toma de biopsia y planificar un tratamiento efectivo. Requiere una buena formación y experiencia del especialista. Es una prueba muy sensible para la detección de las lesiones precursoras del cáncer de cérvix, sin embargo es poco específica, pues no siempre las imágenes colposcópicas anormales corresponden a lesiones intraepiteliales.

Conocer las características colposcópicas del cuello uterino normal y poder identificarlas sienta las bases para diferenciar los resultados colposcópicos normales de los anormales. El concepto anatómico más importante es la zona de transformación. Si no se puede identificar adecuadamente toda la zona de transformación, el examen colposcópico se considera insatisfactorio.

6.3.1-EXPLORACION COLPOSCÓPICA.

El examen colposcópico debe seguir una metodología sistemática, siguiendo los siguientes pasos.

- 1.-Visualización a simple vista de la vulva y la región perianal
- 2.-Introducción del espéculo y visualización directa de vagina y cérvix.
- 3.-Visión colposcópica del cuello, tras la limpieza con suero fisiológico, y visión con filtro verde para valorar la vascularización.
- 4.-Aplicación del acético al 5%.
- 5.-Identificación de la zona escamo-columnar y de la zona de transformación.
- 6.-Determinar si la colposcopia es o no satisfactoria.
- 7.-Identificar y valorar si las características de los hallazgos colposcópicos anormales.
- 8.- Valorar el canal endocervical.
- 9.-Identificar los hallazgos más significativos y realizar biopsias sobre los mismos.

- 10.-Establecer el grado histológico y descartar invasión.
- 11.- Test de Lugol, para precisar topografía y extensión, especialmente antes de un tratamiento de exéresis y para el estudio de la vagina.
- 12.-Diagnosticar neoplasias multicéntricas.
- 13.-Elaborar un informe clínico que describa los hallazgos colposcópicos, la impresión diagnóstica y su correlación con el resultado de la citología, la biopsia y en su caso el Test de VPH.
- 14.- Establecer un plan terapéutico
- 15.-Comunicar los resultados y la conducta a aconsejada a la paciente.

La clasificación de los hallazgos colposcópicos vigente actualmente es la aprobada en julio de 2011 por el Board de la IFPC y por la Asamblea General celebrada durante el XIV Congreso Mundial de Patología Cervical y Colposcopia de la IFPC celebrado en Rio de Janeiro.

Ilustración 16. Nomenclatura IFPC 2011. Aceptada en el Congreso Mundial de Río. 2011

TERMINOLOGIA COLPOSCOPICA DEL CUELLO UTERINO DE IFPC 2011 ¹			
EVALUACION GENERAL		<ul style="list-style-type: none"> Adecuada/inadecuada a causa de ...(por ej.: cuello uterino no claro por inflamación, sangrado, cicatriz) Visibilidad de la unión escamocolumnar: completamente visible, parcialmente visible, no visible. 	
HALLAZGOS COLPOSCOPICOS NORMALES		Tipos de zona de transformación 1,2,3 Epitelio escamoso original: <ul style="list-style-type: none"> Maduro Atrófico Epitelio columnar <ul style="list-style-type: none"> Ectopía Epitelio escamoso metaplásico <ul style="list-style-type: none"> Quistes de Naboth Aberturas glandulares y/o criptas glandulares Deciduosis en el embarazo	
HALLAZGOS COLPOSCÓPICOS ANORMALES	Principios generales	Ubicación de la lesión: dentro o fuera de la zona de Transformación, ubicación de la lesión según las agujas del reloj. Tamaño de la lesión Número de cuadrantes del cuello uterino que cubre la lesión, tamaño de la lesión en porcentajes del cuello uterino.	
	Grado 1 (Menor)	Epitelio acetoblanco delgado. Borde irregular	Mosaico fino, Puntillado fino
	Grado 2 (Mayor)	Epitelio acetoblanco denso, Aparición rápida de epitelio acetoblanco. Orificios glandulares abiertos con bordes engrosados.	Mosaico grueso, Puntillado grueso. Bordes delimitados, Signo del límite del borde interno, Signo de cresta o sobreelevado.
	No específicos	Leucoplasia (queratosis, hiperqueratosis), Erosión Solución de Lugol (Test de Schiller): positivo/negativo	
SOSPECHA DE INVASION		Vasos atípicos Signos adicionales: Vasos delgados, superficie irregular, lesión exofítica, necrosis, ulceración (necrótica), tumoración nodular.	
HALLAZGOS VARIOS		Zona de transformación congénita, Condiloma, Pólipo (exocervical /endocervical) Inflamación,	Estenosis, Anomalia congénita, Anomalías post tratamiento, Endometriosis

TERMINOLOGIA COLPOSCOPICA DEL CUELLO UTERINO – APÉNDICE DE IFPC 2011 ¹	
Tipos de tratamiento de escisión	Tipo de escisión 1,2,3
Medidas de la muestra de escisión	Largo – distancia del margen distal/externo al margen proximal/interno Grosor – distancia del margen estromal a la superficie de la muestra extirpada Circunferencia (Opcional)- el perímetro de la muestra extirpada.

1.-Aplicación de ácido acético

Tras la aplicación de ácido acético al 3-5%, las áreas de alta densidad nuclear impiden el paso de la luz a los vasos de estroma y reflejan un color blanco, este efecto se puede producir en:

- Paraqueratosis
- Hiperqueratosis
- Acantosis
- Aumento de la densidad nuclear (lesiones preneoplásicas)
- Infiltración inflamatoria.

1.1.-Epitelio acetoblanco:

- Se clasifica como cambio menor si la superficie acetoblanca es débil, tenue, plana, no sobreelevada, con bordes irregulares, poco definidos o geográficos. Preferentemente se localizará en zonas alejadas del canal cervical, y serán lesiones poco extensas. Este patrón colposcópico suele corresponder a lesiones de metaplasia o bajo grado.
- Se considera cambio mayor el epitelio acetoblanco denso, que aparece pronto y desaparece tarde, con un borde bien definido, con superficie sobreelevada o rugosa y los márgenes abruptos con el tejido circundante sano.

1.2.-Mosaico: es un epitelio habitualmente acetoblanco en forma de celdas delimitadas por bordes rojizos que se corresponden a vasos atrapados en el epitelio displásico.

- Los cambios menores se caracterizan por un mosaico fino, con losetas pequeñas de similar tamaño y bajo relieve. Los vasos son regulares y finos. Histológicamente corresponden a metaplasia escamosa con paraqueratosis o lesión de bajo grado.

- Los cambio mayores el mosaico es grosero, con losetas mayores, de diferente tamaño y grosor, haciendo relieve sobre un epitelio normal. Corresponden con lesiones de alto grado.

1.3.-Punteado

- Los cambios menores se caracterizan por un punteado fino, distribuido de forma regular con un calibre pequeño y sin relieve sobre un epitelio acetoblanco.
- Los cambios mayores son un punteado grueso más sinuoso, irregulares y con relieve, con sangrado fácil al contacto y mayor distancia intercapilar.

1.4.-Vasos atípicos: son vasos dilatados con imágenes en “stop” adoptando múltiples formas. El mejor momento es antes de la aplicación del ácido acético, aplicando suero fisiológico y utilizando el filtro verde, ya que el ácido acético puede enmascarar los cambios sobre todo las zonas acetoblanas.

2.- Test de Schiller

Tras la aplicación de la solución yodoyodurada de lugol (test de Schiller), el epitelio escamoso maduro, que tiene glucógeno, se tiñe de color marrón oscuro. Las zonas yodonegativas o Schiller positivas son epitelios sin glucógeno y corresponden a zonas de metaplasia, CIN o bajo nivel estrogénico (atrofia o hipotrofia).

3.-Otras características:

- Topografía: las lesiones centrales en contacto o por dentro de la línea de transformación son más características de lesiones de mayor grado que las lesiones periféricas ^[72].
- Extensión: a mayor tamaño mayor posibilidad de lesión de alto grado, con un RR de 3.91 para CIN 2-3 si ocupa más del 75% ^[72]. Se puede estimar su tamaño en función de los cuadrantes afectados o el porcentaje de afectación.
- La coexistencia de características anormales distintas puede aumentar la probabilidad de que haya una lesión ^[73].

Las características sugestivas de cáncer invasor son la existencia de:

- Superficie irregular, erosionada o ulcerada.
- Congestión vascular y tendencia a hemorragia con la manipulación.
- Cambio acetoblanco denso
- Punteado o mosaico extenso o irregular
- Presencia de vasos atípicos

En los pacientes con edad cercana a la menopausia, durante la lactancia o bajo tratamiento con gestágenos, la zona de transformación es más frecuente de tipo 3 (localización endocervical) y las lesiones suelen ser menos visibles. Por tanto, si existe una citología alterada o hay sospecha de lesión cervical, se debe realizar un estudio del endocérvix.

Durante el embarazo y en pacientes que toman estroprogestágenos hay frecuentes procesos de metaplasia y reparación (cambios menores) que pueden parecer patológicos. La ectopia es más frecuente y la zona de transformación tipo 3 es rara. Las lesiones suelen mostrarse en el ectocérvix.

7.- TRATAMIENTO DE LA NEOPLASIA CERVICAL INTRAEPITELIAL

El tratamiento de la CIN debe reunir los siguientes requisitos:

- Baja mortalidad
- Máxima conservación de la función reproductiva
- Baja incidencia de persistencia o recidiva
- Garantía de seguimiento colposcópico y citológico sucesivo.
- Relación coste- beneficio favorable.

7.1.- TIPOS DE TRATAMIENTO.

Los tratamientos pueden ser de dos tipos: destructivos, que producen una destrucción física de la lesión y excisionales con los que se obtiene su extirpación completa.

A pesar de que existe un número limitado de estudios que comparen las diferentes modalidades de tratamiento, los resultados muestran que los métodos destructivos y los excisionales ofrecen una eficacia similar en el tratamiento de la CIN. En una revisión de 29 estudios, siguiendo la metodología Cochrane, se han comparado 7 tipos de tratamiento, no existiendo diferencias significativas en cuanto al resultado de la eficacia del tratamiento. No existe ninguna técnica superior para el tratamiento de la CIN en términos de tratamientos insuficientes o una mayor morbilidad ^[74, 75].

Independientemente de la técnica usada, el objetivo del tratamiento es el de eliminar de forma completa la zona de transformación. En general se acepta que para obtener tasas óptimas de erradicación se debe alcanzar una profundidad en torno a 6-8mm.

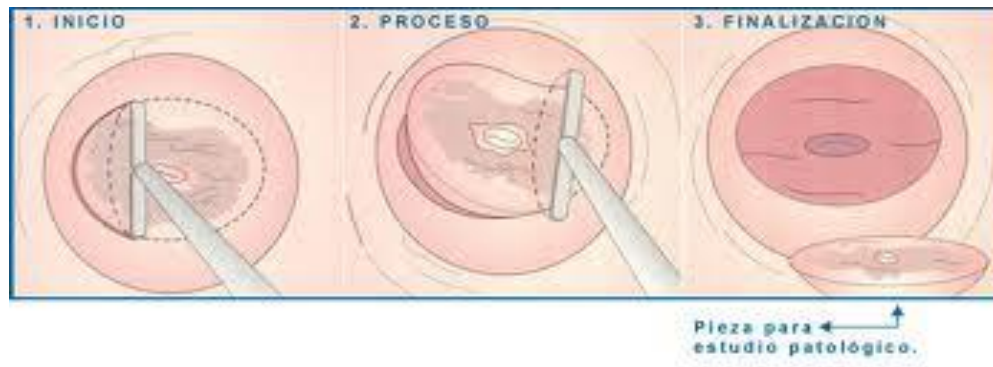
- **Tratamientos destructivos:** El principal inconveniente es que no se obtiene material para estudio histológico. Los disponibles son: Termocoagulación, Electrocoagulación, Criocoagulación y Vaporización con láser de CO₂, siendo estos dos últimos los más utilizados.
- **Tratamientos excisionales:** La principal ventaja es la posibilidad de estudio histológico, que permitirá descartar la presencia de un cáncer oculto y por otra parte estudiar los márgenes de resección de la pieza. Entre los tratamientos excisionales se encuentran: la conización con bisturí frío, láser o asa diatérmica y, excepcionalmente la histerectomía.

7.1.1 Conización.

Debe adaptarse a la topografía de la lesión, en mujeres jóvenes donde la lesión se encuentra en la región exocervical un cono ancho y profundo es suficiente, pero en las mujeres mayores donde la lesión se encuentra con

mayor frecuencia en el canal endocervical está indicado hacer un cono más profundo.

Ilustración 17. Conización cervical.



La conización con asa de diatermia fue introducida por Cartier (1984), para la práctica de biopsias con fines diagnósticos. Después Prendiville (1989), popularizó la técnica con finalidad terapéutica al introducir asas de mayor tamaño que permiten la exéresis de toda la zona de transformación. Mientras que en Europa la técnica se conoce con el término LLETZ (Large Loop Excision of the transformation Zone), en EEUU se emplean las siglas LEEP (Loop Electrical Excision Procedure).

La técnica consiste en la exéresis de toda la zona de transformación mediante un alambre de tamaño adecuado conectado a un generador de corriente de alta frecuencia. Se debe intentar extirpar la lesión en un solo fragmento, evitando así errores en la interpretación de resultados.

Ventajas: Método ambulatorio, rápido, de fácil aprendizaje y económico, con adecuada recuperación anatómica del cuello y alta tasa de curación.

Inconvenientes: La divulgación masiva de la técnica puede traer consecuencias no deseadas:

- 1) Alto porcentajes de escisiones incompletas, que llega a un 44% ^[76]. En ocasiones cuando la ZT es demasiado ancha, la extirpación se realiza en dos piezas, lo cual dificulta la interpretación histológica. Actualmente hay asas de

distintos tamaños que permiten adaptar la cirugía al tipo de lesión. Sin embargo la mayoría de los casos de fragmentación de la pieza, se deben a una mala técnica.

- 2) Alto porcentaje de conos negativos, que oscila entre el 14 y 30%, lo que significa tratamientos innecesarios. Además se corre el riesgo de extirpar tejido cervical en exceso que puede tener repercusiones negativas en la fertilidad posterior de la paciente ^[77].

7.1.2. Ver y tratar.

La amplia divulgación de la técnica del asa de diatermia ha dado lugar a una nueva estrategia terapéutica, usada especialmente en el Reino Unido (inglés: see and treat). La técnica consiste en tratar a las mujeres en la primera visita basándose en los resultados de la citología y colposcopia, sin biopsia preoperatoria.

Ventajas: Evita una nueva consulta y la pérdida de seguimiento de la paciente; alivia la ansiedad de la paciente al tratarla de inmediato y reduce el coste económico.

Inconvenientes: El alto porcentajes de conos negativos, superior al 40% según algunos autores, ha demostrado ser perjudicial y se asocia a un tratamiento injustificado ^[77, 78].

En la actualidad esta práctica se desaconseja y sólo se acepta como recurso excepcional en casos muy seleccionados:

- 1) Pacientes con citología de HSIL y colposcopia con cambios mayores realizada por un colposcopista experto.
- 2) Pacientes que han completado su deseo gestacional.
- 3) Pacientes con alto riesgo de pérdida en el seguimiento.

En cualquier otro caso, únicamente deben utilizarla grupos de trabajo que hayan monitorizado de forma satisfactoria y significativa su experiencia, habiendo demostrado más de un 90% de CIN en el cierre de sus casos ^[79].

Las ventajas que presenta el asa de diatermia como su menor coste de equipamiento, el ser una técnica más fácil de aprender y más rápida de realizar, han favorecido su gran difusión y en la actualidad es la técnica más utilizada.

7.1.3.-Histerectomía.

La histerectomía no está indicada como tratamiento primario de la CIN, por su alta morbilidad y por el riesgo de infratratamiento en caso de carcinoma oculto.

Las posibles indicaciones de la histerectomía son:

1) Imposibilidad técnica de realizar una conización, ya sea por estenosis vaginal u obesidad mórbida que impida la visualización del cérvix.

2) conización con márgenes afectados, en pacientes con deseo genésico completo o imposibilidad de seguimiento posterior.

3) presencia de otra patología que por sí misma requiera intervención.

Las pautas recomendadas en el tratamiento de la CIN se exponen en la siguiente tabla^[74, 80-94].

Tabla 4. Pautas europeas para el tratamiento de la neoplasia cervical Intraepitelial

Adoptadas por el European Cervical Cancer Screening Network, auspiciadas por la Federación Europea de Colposcopia y basadas en las Guidelines for Practice-Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia del UK NHS CSP.

1.- No hay ninguna técnica quirúrgica conservadora que sea claramente más efectiva que otras para tratar y erradicar la neoplasia cervical intraepitelial (CIN).

2.- Las técnicas destructivas solamente son adecuadas cuando:

- Se puede visualizar la totalidad de la zona de transformación.
- No hay evidencia de anormalidad en el epitelio glandular.
- No hay evidencia de enfermedad invasiva.
- No hay discrepancia entre citología e histología.

**Evidencia.* Revisión de la Cochrane de 28 estudios clínicos controlados y aleatorizados que comparan las 7 técnicas quirúrgicas siguientes: conización con bisturí, conización con láser, exéresis de la zona de transformación con asa (LLETZ), vaporización con láser, crioterapia, cauterización fría y electrocauterización diatérmica radical^[74]. Un estudio clínico prospectivo y aleatorizado que comparaba las técnicas destructivas con las de exéresis mostró un porcentaje menor de casos de CIN2 posteriores a la exéresis.^[79]

3.- La crioterapia debería usarse sólo para las lesiones de bajo grado (cambios por VPH y

CIN1), mediante la técnica de la doble congelación.

**Evidencia.* El porcentaje de curación de las lesiones de alto grado (CIN2-3) es bajo ^[79, 80]. La técnica de la doble congelación tiene menor incidencia de enfermedad residual comparada con la de la congelación única ^[81, 82]

4.- Cuando se utiliza el tratamiento mediante técnicas de exéresis se debería intentar por todos los medios eliminar la lesión en una sola pieza. El informe histológico ha de registrar las dimensiones del espécimen y el estado de los márgenes de resección en cuanto a la enfermedad intraepitelial o invasiva.

**Evidencia.* Es una buena práctica, ya que es menos probable cometer un error de interpretación en las muestras bien presentadas. Se mejora así la orientación de la lesión dentro de la pieza de exéresis, hay menos artefacto térmico en el tejido y en consecuencia es más fiable la interpretación.

5.- En las lesiones ectocervicales, las técnicas de exéresis deberían extirpar el tejido en una profundidad mayor de 8mm

**Evidencia.* La valoración histológica de la profundidad de los fondos glandulares por CIN3 ha mostrado una media de 1-2 mm con un máximo de 5,22 mm y una media de +3 desviaciones estándar de 3,80 mm (que incluyeron el 99,7% de los casos) ^[83, 84].

6.- Se puede seguir el protocolo de tratamiento en la primera visita (see and treat) cuando la revisión del propio material identifique CIN en la mayoría de especímenes extirpados. Esto significa que se encuentra CIN en $\geq 90\%$ de las piezas de exéresis. Sólo en casos excepcionales se debería realizar un tratamiento en la primera visita cuando la citología sea ASC-US o lesión de bajo grado.

**Evidencia.* Es práctica común tratar a las mujeres en la primera visita basándose en la citología y los resultados de la colposcopia. Esta práctica no resulta apropiada si la proporción de muestras libres de CIN es alta ya que se trataría de un tratamiento innecesario. Las clínicas que ofrecen tratamiento en la primera visita tienen que revisar la proporción de CIN. Se puede alcanzar el objetivo de $\geq 90\%$ siguiendo un protocolo selectivo ^[78].

7.- Las CIN que se extienden hasta los márgenes de resección en la exéresis con asa tiene una mayor incidencia de recidiva pero esto no justifica repetir la exéresis siempre y cuando:

- Se visualice toda la zona de transformación
- No haya evidencia de anormalidad en el epitelio glandular.
- No haya evidencia de enfermedad invasiva.
- Las mujeres sean menores de 50 años.

**Evidencia.* Se ha demostrado que las CIN que se extienden hasta los márgenes de una LLETZ son un factor de riesgo para la recidiva de la CIN tanto a corto como a largo plazo ^[75, 85, 86]

8.- Las mujeres mayores de 50 años de edad con una exéresis incompleta de la CIN en el margen endocervical mediante LLETZ tendrían que repetir la exéresis para intentar obtener márgenes negativos.

**Evidencia.* En una serie de 3426 procedimientos LLETZ, las mujeres de edad ≥ 50 con CIN en los márgenes de exéresis constituyeron un grupo minoritario de alto riesgo. Se propuso que estas mujeres recibieran tratamiento en lugar de seguimiento ^[78].

9.- Las mujeres con adenocarcinoma in situ o atipia de células glandulares pueden ser sometidas a exéresis local si desean ser fértiles. La exéresis incompleta del margen endocervical requiere un procedimiento de excisión adicional para obtener márgenes negativos y excluir la posibilidad de enfermedad invasiva oculta.

**Evidencia.* Varios estudios han demostrado que las mujeres con adenocarcinoma in situ con

márgenes negativos pueden recibir tratamiento conservador ^[88-90]

10.- El cáncer escamoso microinvasivo en estadio FIGO Ia1 puede tratarse mediante técnicas de exéresis si:

- Los márgenes de excisión están libres de CIN y enfermedad invasiva. Si se extirpa la lesión invasiva pero la CIN se extiende hasta el margen de corte, debe realizarse una nueva exéresis a fin de confirmar la eliminación de la CIN y excluir todo lo posible invasión. Esta conducta debe seguirse incluso si se plantea una histerectomía para descartar una enfermedad invasiva oculta que requiera cirugía radical.
- Un patólogo especializado en ginecología ha examinado la histología.

**Evidencia.* Diversos estudios proponen tratamiento conservador para el cáncer en estadio FIGO Ia1 ^[92, 93]. Se conoce bien la variación del diagnóstico histológico de la enfermedad microinvasiva, y todos los casos deberían ser examinados por un patólogo independiente interesado en la patología ginecológica

7.2. COMPLICACIONES DEL TRATAMIENTO.

Las complicaciones derivadas del tratamiento, aunque poco frecuentes, pueden aparecer a corto plazo: hemorragia e infección; o a largo plazo: estenosis cervical e incompetencia cervical.

1.-Hemorragia. La complicación más frecuente es la hemorragia postoperatoria que suele aparecer en los primeros diez días. Por lo general suele solucionarse con cualquiera de los procedimientos habituales (electrocoagulación, toques hemostáticos con nitrato de plata, aplicación de la solución de Monsel, taponamiento...) En menos del 1% de los casos requiere hospitalización y la práctica de suturas hemostáticas ^[95].

2.-Infección. La infección postratamiento es prácticamente inexistente. La administración profiláctica de antibióticos es por tanto innecesaria ^[96], salvo que exista indicación médica de profilaxis reumática.

3.- Estenosis cervical. Se define como la imposibilidad de paso de una sonda de 3mm por el orificio cervical externo. El síntoma principal es la dismenorrea, que puede ser tratada con éxito mediante la dilatación cervical. Un problema más importante es la oclusión total del canal endocervical, causa de hematometra recidivante, que en ocasiones puede requerir la práctica de una histerectomía. Se ha observado una incidencia de estenosis de entre el 1,3% y el 5,2 %. Las situaciones que pueden

favorecer la estenosis son las conizaciones amplias y/o profundas, un excesivo daño térmico y la edad de la paciente. Las mujeres postmenopáusicas presentan un mayor riesgo de estenosis postratamiento, por lo que en estos casos puede ser aconsejable la administración de estrógenos, y mantener su uso durante al menos 1 año después de la conización ^[97, 98].

4.-Riesgo Reproductivo.

Diversos estudios muestran los efectos negativos que el tratamiento puede tener sobre los embarazos posteriores. Incremento significativo del riesgo de parto prematuro, bajo peso al nacer y rotura prematura de membranas, complicaciones especialmente relacionadas con la excisión de la zona de transformación y la lesión del orificio cervical interno (incompetencia cervical).

La conización con bisturí frío se ha reconocido como la técnica que presenta mayor riesgo de complicaciones, posiblemente porque con el bisturí frío se escinde un mayor volumen tisular. Sin embargo, varios trabajos han sugerido que todos los tratamientos excisionales implican un aumento de la morbilidad obstétrica ^[99-103]. Las mujeres tratadas con asa de diatermia presenta de forma significativa mayor riesgo de partos prematuros, parto pretérmino y bajo peso al nacer como se demostraba en el trabajo de Bruinsma F(2007) ^[104].

Muchos trabajos han sugerido que los tratamientos destructivos presentan menos riesgos que los excisionales, sin embargo también incrementan el riesgo reproductivo ^[105, 106].

Varios estudios muestran que la profundidad del cono se relaciona con un mayor número de partos pretérmino. Las conizaciones con una profundidad superior a 15mm se han asociado con un mayor riesgo. El riesgo se incrementa un 20% por cada mm de profundidad.

7.3.-SEGUIMIENTO POSTRATAMIENTO.

A pesar de que los tratamientos actuales para la CIN presentan unos porcentajes de éxito superiores al 95%, es importante informar a la paciente de la

necesidad de realizar controles posteriores. Las revisiones sistemáticas indican una tasa de recurrencia del 5-15% para las diferentes técnicas^[102].

El principal objetivo del seguimiento es el diagnóstico precoz de la enfermedad residual o recurrente, y evitar el riesgo de progresión a una lesión invasora. Se entiende por enfermedad residual aquella lesión que se pone de manifiesto en cualquiera de los controles realizados en el curso de los primeros 12 meses después del tratamiento, y como enfermedad recurrente la que se presenta después del primer año de seguimiento durante el cual la citología y colposcopia ha sido negativas.

Es importante realizar un seguimiento a largo plazo a todas las mujeres tratadas de una CIN, independientemente del grado y del método terapéutico usado. Estas pacientes presentan un riesgo de desarrollar un cáncer invasor 5 veces mayor que el de la población general, y éste puede aparecer en un periodo de 10 a 20 años después del tratamiento^[75, 91, 107]. La histerectomía total no excluye el riesgo de recidiva en la cúpula vaginal incluso a largo plazo^[108].

7.3.1.-Factores de riesgo de persistencia o recidiva.

Con independencia del grado de la CIN diversos factores se han asociado a un mayor riesgo de persistencia o recurrencia lesional^[109, 110]

- Tamaño de la lesión
- Afectación de márgenes quirúrgicos^[111-115]
- Edad de la paciente^[88]
- Persistencia de infección por VPH postratamiento^[115-117] (especialmente VPH 16)
- El estado inmunológico^[118, 119].

Algunos autores han sugerido que la carga viral elevada antes del tratamiento puede ser predictiva de persistencia o recurrencia lesional (≥ 500 URL, ≥ 1000 URL)^[120],^[115]. También se ha estudiado la carga viral preconización como factor de riesgo para realizar seguimiento en algunas pacientes con lesión H-SIL y presencia de VPH-AR con

URL < de 1 URL (negativo) o baja carga viral URL < de 10, donde la probabilidad de realizar una conización con márgenes negativos era mayor que en pacientes con mayor carga viral ^[121].

La afectación de los márgenes quirúrgicos especialmente el endocervical ^[122] se ha considerado un importante factor predictivo de fallo terapéutico. Si los márgenes son negativos, la probabilidad de enfermedad residual es del 2-31%, mientras que si están afectados la probabilidad es del 30-90%. ^[123]. Sin embargo la presencia de márgenes de resección afectados (excisión incompleta), no es sinónimo de lesión residual, como se demuestra en la baja proporción de pacientes con márgenes afectados que presentan lesión residual en la histerectomía posterior.

Tanto el efecto térmico del tratamiento como la reacción inflamatoria del tejido se han apuntado como posibles causas de este fenómeno. Aproximadamente un 60% de las pacientes con márgenes positivos no presentará lesiones en el seguimiento y un 12% con márgenes negativos presentará lesión. Por tanto, la conducta que se propone para el seguimiento de márgenes afectados es el estudio con colposcopia con eventual biopsia y estudio endocervical en la primera visita de control. Por lo tanto el estado de los márgenes se debe tener en cuenta como factor de riesgo de persistencia pero por sí solo no justifica una reconización o histerectomía.

Algunos autores^[88, 119], consideran la edad como factor de riesgo independiente de recidiva, que es más elevado en pacientes mayores de 50 años, opinión no compartida por otros ^[115].

7.3.2.-Métodos diagnósticos y predictores de lesión residual o recurrente.

El concepto de fallo terapéutico está íntimamente ligado a la capacidad de poner de manifiesto la lesión intraepitelial, residual o recurrente, durante el control postratamiento. Los protocolos de seguimiento aceptados incluyen la citología o la combinación de citología y colposcopia cada 4-6 meses hasta tener 3 valoraciones consecutivas negativas. Después se recomienda el seguimiento anual ^[124].

Sin embargo, la citología presenta una tasa de falsos negativos que limita su eficacia en el control de la curación ^[125]. Además, algún estudio sugiere que la citología pierde sensibilidad tras el tratamiento ^[126].

Algunos protocolos de seguimiento postratamiento no incluyen la colposcopia, alegando que añade pocas ventajas a la citología y supone una sobrecarga asistencial. No obstante, otros autores para aumentar la baja sensibilidad de la citología aconseja asociarla siempre a la colposcopia ^[91].

Actualmente, las pruebas para la identificación de ADN-VPH de alto riesgo también se han incorporado al seguimiento de estas pacientes. La determinación del ADN-VPH, no antes de los 6 meses del tratamiento, muestra una excelente sensibilidad para la detección de lesión residual. Aunque la repetición de citologías aumenta la sensibilidad no llega a alcanzar los valores que ofrece la determinación de VPH. Sin embargo, la baja especificidad de dicho test frente a la citología apoya la necesidad de efectuar un seguimiento de estas pacientes con ambas pruebas ^[125, 126].

La determinación del ADN-VPH ofrece un VPN cercano al 100% en la mayoría de los trabajos. Si la citología y el test de VPH son negativos a partir de los 6 meses postratamiento el riesgo de persistencia de la lesión es prácticamente nulo. La recidiva, en caso de que se produzca, es probable que se deba a una nueva reinfección. La incorporación del test permite obviar la repetición innecesaria de citologías y retornar antes a las mujeres al programa de cribado. En estas pacientes se debe insistir en la necesidad de abandonar el hábito tabáquico por su conocido efecto en la persistencia de la infección por el VPH y el riesgo de progresión a cáncer ^[117].

En conclusión es aconsejable realizar el primer control en la misma unidad en la que se efectuó el tratamiento. Si los márgenes de la pieza de conización están libres, se realizará a los 6 meses postratamiento, pero si estaban afectados, se adelantará a los 3 meses. En la guía de consenso de la Sociedad Americana de Patología Cervical y Colposcopia del 2006 ^[124] se recomienda:

- Realizar citología y colposcopia a los 6 meses del tratamiento (Grado de recomendación IIB).

- El test de VPH debe hacerse entre los 6 y 12 meses.
- En mujeres que presenta VPH positivo o una citología con el resultado de ASC-US o mayor se recomienda colposcopia con estudio endocervical citológico o histológico. Grado de recomendación IIB.
- Las pacientes con VPH negativo y 2 citologías consecutivas con el resultado de “negativa para lesión intraepitelial o malignidad” pueden pasar a cribado poblacional comenzando a los 12 meses de la última citología y con un periodo de seguimiento de 20 años.
- Se considera inaceptable el realizar una reconización o una histerectomía basándose sólo en un Test de VPH positivo. Grado de recomendación IA.
- Si los márgenes son positivos para CIN 2-3 o en el legrado endocervical postconización se identifica CIN 2-3 se realizara citología con biopsia endocervical a los 4-6 meses de la conización.
- Es aceptable un tratamiento excisional repetido (grado de recomendación IIIC) si es positiva. La histerectomía sólo sería aceptable si la reconización no fuera posible. En una mujer con el diagnóstico de enfermedad residual o recurrente CIN 2-3 se acepta la reconización o la histerectomía. (Grado de recomendación IIB). En cualquier caso previo a la histerectomía se debe valorar exhaustivamente la vagina para descartar una VAIN.

7.4.-SITUACIONES ESPECIALES

1.- Inmunodepresión VIH.

Las mujeres inmunodeprimidas, ya sea a causa de una infección por el VIH u otra enfermedad, o por estar sometidas a tratamientos inmunosupresores tienen un riesgo más elevado de desarrollar una infección por VPH tanto en sus formas clínicas como subclínicas y de que dichas lesiones sean más extensas y evolucionen más rápidamente. A menudo estas pacientes presentan condilomas extensos en la mayor parte de TGI. Las lesiones precursoras, especialmente las de cuello uterino, son más frecuentes y avanzadas, y progresan más rápidamente. Los fracasos del tratamiento son más numerosos y hay un alto índice de recurrencias.

La incidencia global de CIN en las mujeres HIV positivas varía entre el 10 y el 25%, por lo que es obligado realizar un cribado del cáncer de cuello uterino. Los factores de riesgo más importantes son:

- Valores bajos de CD4 (< de 200 / μ l)
- Alta carga viral de VIH
- Falta de respuesta al tratamiento antirretroviral con persistencia de inmunodepresión.

Las mujeres con CD > de 500/ μ l, citología normal y VPH negativo tiene un riesgo semejante a las mujeres VPH negativas y deben seguir el mismo protocolo de cribado.

2.- Adenocarcinoma.

El adenocarcinoma del cérvix es una entidad poco frecuente y se ha observado un aumento relativo de éste en la última década ^[127, 128]. El adenocarcinoma comparte los mismos factores de riesgo que el cáncer escamoso y el VPH 16 es el tipo más frecuentemente en ambos. Sin embargo el VPH 18 es más frecuente en el adenocarcinoma que en el cáncer escamoso, especialmente en las mujeres jóvenes. En conjunto, los VPH 16 y 18 están presentes en el 85% de los adenocarcinomas frente al 70% de los carcinomas escamosos ^[129], lo cual tiene implicaciones en la valoración del efecto de la vacuna.

La media de edad del adenocarcinoma en una serie española fue de 45 años, mientras que del adenocarcinoma in situ (AIS) fue de 38 años. ^[130]

El cribado citológico del AIS y el adenocarcinoma es más dificultoso que el de la CIN y el carcinoma. Se confía que el uso del test de VPH en el cribado mejore su detección ^[129, 131]. Asimismo la colposcopia en el AIS resulta de escaso valor, ya que en la mayoría de las veces las imágenes anormales corresponden a lesiones escamosas. El legrado endocervical tiene una eficacia diagnóstica entre el 35 y el 75% por lo que si es negativo no descarta la existencia de AIS. En 11 series de la literatura médica la asociación AIS-CIN se constató entre el 39% y el 85% de los AIS; en un trabajo español fue del 67% ^[132].

El riesgo de enfermedad pre maligna o maligna en la citología con presencia de células glandulares atípicas (ACG) varía entre el 9 y el 41%, mientras que en la AGC con posible neoplasia (AGC-N) asciende al 96% ^[133].

El AIS de cérvix plantea un reto importante, ya que afecta con frecuencia a mujeres jóvenes que desean preservar su fertilidad. Para algunos autores, la recurrencia postratamiento es relativamente baja, y el riesgo de adenocarcinoma invasivo en el seguimiento es raro, por lo que aceptan un tratamiento conservador mediante conización, si los márgenes quirúrgicos son negativos ^[89, 90].

En 15 series publicadas, la presencia de AIS residual en la pieza de histerectomía fue del 22% (rango, 0-51) si los márgenes de la conización estaban libre y del 59%(rango 0-810) con márgenes afectados ^[132]. La presencia de márgenes quirúrgicos libres no excluye en su totalidad la posibilidad de recidiva ^[91]. Por ello las pacientes que optan por una conducta conservadora deben controlarse estrictamente mediante colposcopia y una vez cumplidos sus deseos genésicos es aconsejable realizar una histerectomía ^[91].

II-JUSTIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS.

OBJETIVOS.

1.-JUSTIFICACIÓN.

El objetivo de la conización cervical es la exéresis de toda la zona de transformación incluyendo la totalidad de la lesión intraepitelial. Debido a que la capacidad de aclaramiento del VPH disminuye con la edad, aumentando el riesgo de enfermedad residual/recurrente, existe una tendencia a aumentar el tamaño de la pieza de conización extirpada a mayor edad de la paciente. Hay numerosos trabajos que asocian la conización con el riesgo de parto pretérmino. Por lo tanto, en mujeres mayores de 35 años que han ido retrasando la edad reproductiva en los últimos años, sería importante conocer cuál es el volumen y la profundidad mínima necesaria que debe tener una pieza de conización para realizar un tratamiento efectivo y evitar el riesgo de enfermedad residual/recurrente, disminuyendo de esta forma los riesgos obstétricos. Asimismo, es necesario investigar si los márgenes afectos en la pieza de conización y la presencia del VPH-AR después de la conización son factores de riesgo de enfermedad residual/recurrente.

2.-HIPÓTESIS PRINCIPAL.

Las pacientes mayores de 35 años que presentan una pieza de conización con ≤ 8 mm o ≤ 10 mm de profundidad, márgenes positivos y VPH-AR positivo postconización presentan con mayor frecuencia enfermedad residual/recurrente.

3.-OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Determinar en nuestro medio la prevalencia preconización y postconización de los genotipos de VPH de las pacientes que han sido sometidas a una conización con asa de diatermia por diagnóstico CIN2+
- Estudiar si la presencia de coinfección por VPH asocia un mayor riesgo de presentar lesión intraepitelial de alto grado y mayor riesgo de enfermedad residual/recurrente.
- Determinar la relación entre la profundidad-volumen
- En el seguimiento de las pacientes después de la conización estudiar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de :

-Citología única

-ADN VPH –AR

III-MATERIAL Y MÉTODOS

1.-DISEÑO DEL ESTUDIO.

Se ha realizado un estudio observacional, descriptivo y retrospectivo de las conizaciones con asa de diatermia realizadas en el Hospital Universitario de Guadalajara.

Nuestro estudio comprende la población femenina de la provincia de Guadalajara que según el Servicio Sanitario de Castilla-La Mancha corresponde al Hospital Universitario de Guadalajara, su Centro de Especialidades del Ferial y su Centro de Especialidades de Azuqueca de Henares.

Se revisaron todas las pacientes sometidas a una conización con asa de diatermia durante el intervalo comprendido entre Enero de 2007 y diciembre de 2010 con diagnóstico de lesión intraepitelial escamosa de alto grado CIN 2+.Con un periodo de seguimiento hasta enero de 2014, rango de 3 a 7 años.

A todas las pacientes incluidas en nuestro estudio a partir de un cribado poblacional oportunista se les realizó una citología convencional cuyo resultado fue patológico. Dichas pacientes fueron derivadas al Servicio de Ginecología del HUG donde se les realizó la historia clínica y exploración clínica. En el mismo proceso se procedió a la determinación de VPH, colposcopia, y estudio histológico de cérvix uterino dirigido por colposcopia.

El estudio histológico de las muestras fue realizado por el servicio de Anatomía Patológica del hospital.

El estudio molecular de las muestras se realizó por el personal del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital General Universitario de Guadalajara.

El tratamiento y seguimiento después de la conización fue realizado por el personal facultativo del Servicio de Ginecología del mismo hospital.

1.1.-CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

1.- Pacientes del área del HUG con citología patológica mediante cribado poblacional y confirmación de CIN en biopsia posterior.

2.- Pacientes a las que se les realizó una conización con asa de diatermia en el Hospital Universitario de Guadalajara entre los años 2007-2010.

3.- Disponer de estudio histológico previo a la conización con resultado de H-SIL (CIN 2,3 ó +) y/o VPH de alto riesgo.

4.- Disponer de seguimiento posterior a la conización con citología y/o una determinación de VPH (PCR) y /o biopsia.

1.2.-CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

1.- Ausencia de estudio histológico previo a la conización con resultado de H-SIL (CIN 2,3 ó +) y/o VPH de alto riesgo.

2.- Ausencia de seguimiento posterior a la conización con citología y/o una determinación de VPH (PCR) y /o biopsia.

2.-SELECCIÓN DE PACIENTES.

Se realizó una búsqueda en la base de datos del HP-HIS (versión 2) del Hospital General Universitario de Guadalajara. Para ello se introdujo el código 67.2 adscrito al proceso de conización. El periodo de selección se estableció entre Enero de 2007 y diciembre de 2010. Todos los datos fueron recogidos en una hoja de cálculo de Office Excel (versión 2007). Los datos facilitados por este sistema fueron:

- Número de historia clínica
- Nombre y dos apellidos de la paciente
- Fecha de ingreso
- Fecha de intervención
- Quirófano donde se realizó
- Tipo de intervención
- Servicio quirúrgico
- Código diagnóstico 1
- Descripción 1
- Código de procedimiento 1: diagnóstico preoperatorio
- Descripción 3: cirugía realizada
- Cirujanos
- Fecha de alta
- Estancia preoperatoria
- Estancias
- Año

Con posterioridad a la recogida de estos datos se procedió a elaborar la base de datos definitiva, también en una hoja de cálculo de Excel. Los datos clínicos fueron obtenidos uno a uno de la historia clínica informatizada del HUG (Mambrino-Sinapsis). Asimismo se obtuvieron para su confirmación los datos anatomopatológicos en el

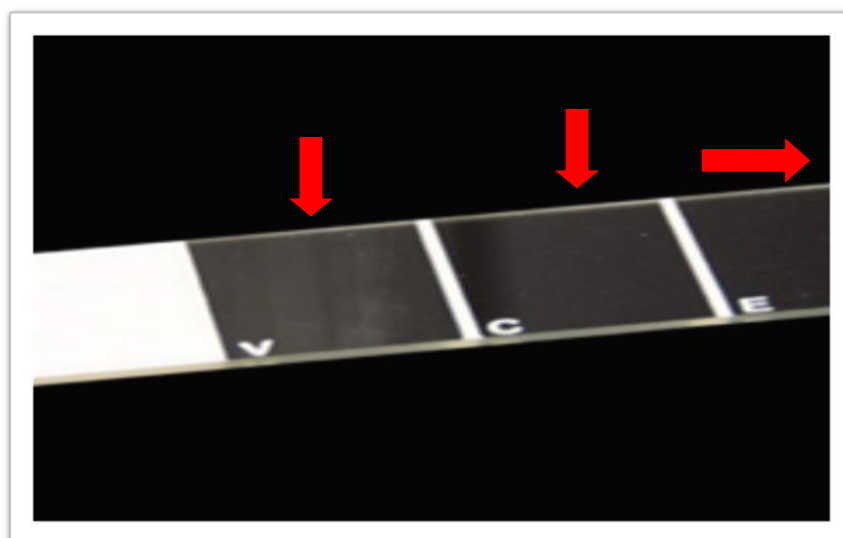
programa informático del Servicio de Anatomía Patológica del hospital (PATWIN®, versión 3.4.1., isoft).

3.-PROTOCOLO DEL ESTUDIO.

3.1.-CITOLOGÍA Y TEST DE HPV.

El método empleado para el diagnóstico de sospecha de nuestro grupo de pacientes fue el cribado oportunista de cáncer de cérvix mediante citología convencional. La citología convencional se realiza mediante el método de triple toma wied, en el que con una espátula de madera se realiza toma de ambos fondos de saco vaginales laterales con la parte más plana de la madera, una toma de toda la superficie exocervical del cuello uterino con la parte de la espátula que presenta la escotadura y una toma endocervical con cepillo. Después se procede a la extensión de la muestra en un cristal, que previamente hemos identificado con el nombre y apellidos de la paciente, en lápiz. La extensión se realiza en sentido longitudinal en la toma vaginal y exocervical, y en sentido transversal en la toma endocervical.

Ilustración 18.. Triple toma Wied.



Se fija la muestra con alcohol pulverizando sobre el cristal a una distancia de unos 15-20 cms y se transporta de forma correcta hasta el servicio de Anatomía Patológica.

Todas las pacientes con citología de CIN2 + fueron remitidas a la Consulta de Ginecología donde se realizaba un estudio de VPH.

El test de VPH se realiza a partir de una citología líquida, con un único cepillo se procede a realizar toma exocervical y endocervical rotando el cepillo 3 veces en sentido horario en la superficie del cérvix, a continuación se introduce en medio

líquido (Thin Prep®) frotando el cepillo con el fondo del envase donde se halla el medio líquido para liberar de forma correcta la muestra. Se identifica el bote de muestra con el nombre y apellidos del paciente y se envía a Anatomía Patológica.

El estudio citológico se realizó en todos los casos en el Servicio de Anatomía Patológica. Las muestras de citología fueron clasificadas de acuerdo al sistema Bethesda 2001^[64]:

Tabla 5. Clasificación histológica citológica. Bethesda 2001

<p>1. Idoneidad de la muestra</p> <ul style="list-style-type: none"> - Satisfactoria para evaluación (señalar la presencia o ausencia de células endocervicales o metaplásicas) - Insatisfactoria para valoración. (especificar el motivo) - Muestra rechazada o no procesada. (especificar el motivo) - Muestra procesada y examinada, pero insatisfactoria para valoración de anormalidades epiteliales debido a...(especificar el motivo) <p>2. Categorización general(opcional)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Negativa para lesión intraepitelial o malignidad - Células epiteliales anormales - Otras <p>3. Interpretación/resultado</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Negativa para lesión intraepitelial o malignidad</i> - Organismos <ul style="list-style-type: none"> o <i>Trichomona vaginalis</i> o Hongos morfológicamente compatibles con <i>Candida</i> o Flora sugestiva de vaginosis bacteriana o Bacterias morfológicamente compatibles con <i>Actynomices</i> o Cambios celulares compatibles con virus del herpes simple. - Otros hallazgos no neoplásicos (opcional) - Cambios celulares reactivos asociados a inflamación (incluye reparación típica), radiación, dispositivo intrauterino <ul style="list-style-type: none"> o Células glandulares posthisterectomía o Atrofia - <i>Células epiteliales anormales</i> <ul style="list-style-type: none"> o Células escamosas <ul style="list-style-type: none"> ▪ Células escamosas atípicas (ASC) ▪ de significado indeterminado (ASC-US) ▪ no puede excluir lesión escamosa intraepitelial de alto grado (ASC-H) ▪ Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LSIL) incluye: <ul style="list-style-type: none"> • cambios por el virus del papiloma humano/displasia leve/neoplasia cervical intraepitelial CIN1. ▪ Lesión escamosa intraepitelial de alto grado (HSIL) incluye: <ul style="list-style-type: none"> • cambios por displasia moderada y grave, carcinoma in situ, CIN2 y CIN3. ▪ Carcinoma escamoso - Células glandulares <ul style="list-style-type: none"> ▪ Células glandulares atípicas (ACG) (especificar endocervical, endometrial o sin especificar) ▪ Células glandulares atípicas, posible neoplasia (ACG-N) (especificar endocervical o sin especificar) ▪ Adenocarcinoma in situ endocervical (AIS) ▪ Adenocarcinoma - <i>Otros</i> - Células endometriales normales en mujer =40 años

4. LECTURA AUTOMATIZADA Y TÉCNICAS AUXILIARES

(Incluir si precisa)

5. NOTAS DIDÁCTICAS Y SUGERENCIAS (opcional)**3.2. HISTOLOGÍA.**

Las muestras de biopsia eran tomadas bajo control colposcópico y enviadas en formol tamponado al 10% al servicio de Anatomía Patológica.

Los datos de la colposcopia no han sido recogidos por falta de documentación y unificación de criterios.

Clasificación del SIL: Las biopsias y las piezas de conización fueron evaluadas y clasificadas en primera instancia según la clasificación de Bethesda 2001. Posteriormente las lesiones consideradas de alto grado (HSIL) fueron subclasificadas según la clasificación de la Organización Mundial de la Salud en Neoplasia Intraepitelial Cervical (CIN) tipo CIN2 y CIN3.

- LSIL: Comprende la lesión viral coilocitaria y las lesiones descritas previamente como displasia del tercio basal del epitelio (CIN1).
- HSIL: Subclasificado en:
 - CIN2: La lesión se limita a los 2/3 del grosor del epitelio, antes se llamaba de displasia moderada.
 - CIN3: lesión escamosa de alto grado ocupa el 100% del epitelio.

A las pacientes con biopsia CIN 2+, carcinoma in situ se les realizó una conización cervical con asa de diatermia bajo anestesia loco-regional seguida de un legrado endocervical en el mismo hospital.

3.3.-TRATAMIENTO QUIRÚRGICO: CONIZACIÓN CON ASA DE DIATERMIA

Para su realización se empleó un generador electroquirúrgico ajustado a 25-50 Watios de potencia, dependiendo del tamaño del asa y una placa de conexión a tierra desechable. El asa cortante consistió en un mango aislado que lleva unido un asa de alambre. El alambre de acero esterilizado era de 0,2mm de diámetro y diversos tamaños que se adaptaban dependiendo del tamaño de la lesión y el cuello uterino de la paciente ^[134].

Protocolo quirúrgico.

- 1.-Se colocaba a la paciente en posición de litotomía clásica
- 2.-Exposición y pinzamiento de Cérvix uterino con pinzas de Pozzi o puntos paracervicales hemostáticos.
- 3.-Previo repaso de la colposcopia realizada en consulta se procedía a la tinción del cérvix uterino con lugol.
- 4.-Se fijaba la potencia del generador 25-50 vatios para corte y 60 para coagulación con electrodo esférico “o de bola”.
- 5.- Se seccionaba tejido de toda la zona de transformación ^[135] en forma de cono con asa previo marcaje de la pieza a las 12 h con un punto de Vicryl. La profundidad del canal debía ser mínima 5-8mm. Se enviaba la pieza a anatomía patológica.
- 6.-Legrado endocervical con cánula de Novak, enviando material a AP.
- 7.-Coagulación del lecho quirúrgico con electrodo esférico.

3.4.-ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO.

Las citologías convencionales de triple toma fueron remitidas por el Servicio de Ginecología al Servicio de Anatomía Patológica y teñidas con técnica de Papanicolaou convencional. También se remitieron citologías en medio líquido, todas ellas en Thin Prep®, y fueron procesadas de forma convencional con este sistema.

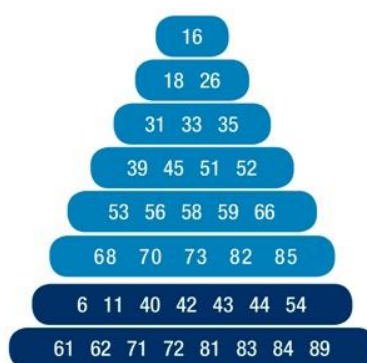
El material biópsico remitido al Servicio de Anatomía Patológica del HUG fue de dos tipos. Por un lado se remitieron biopsias realizadas tras la colposcopia y por otro las piezas provenientes de conización. Tras la recepción y fichado del material, este estuvo fijándose en formol tamponado al 10% durante 24 horas. Las biopsias de pequeño tamaño se introdujeron en bloques especiales para biopsias endoscópicas. Las piezas de conización, pasadas las 24 horas de fijación, fueron talladas de forma convencional. Se pintaron todos los márgenes de la pieza y posteriormente se realizaron secciones finas con un bisturí, longitudinalmente al canal endocervical. Estas secciones contenían la totalidad del espesor de la pieza (exocérvix y parte más proximal del endocérvix). Los restos de pared cervical sin endocérvix se introdujeron en sentido transversal al canal endocervical. La pieza fue estudiada en su totalidad en múltiples bloques.

Los bloques se procesaron (Procesador Leica TP 1020) y se realizaron los bloques de parafina definitivos por personal técnico cualificado del Servicio de Anatomía Patológica del HUG, que también realizó cortes de todos los bloques y tinción con hematoxilina eosina (HE) según técnica habitual.

3.5.-ESTUDIO MOLECULAR.

La determinación de la existencia de ADN de virus de la familia *Papillomaviridae* se realizó en todos los casos sobre el material obtenido mediante citología líquida. La extracción y el análisis se realizaron con el test y protocolo del sistema CLART® HPV2, un producto de diagnóstico *in Vitro* para la detección y genotipado de 35 tipos diferentes de Virus del Papiloma Humano (VPH), empleando PCR múltiples y posterior visualización mediante tecnología basada en arrays de baja densidad. Los distintos tipos de VPH detectados por el sistema se iconografían ordenados siguiendo a Dunne^[136] en la figura 18.

Ilustración 19. Distribución en alto y bajo riesgo de acuerdo a Dunne



3.6.-SEGUIMIENTO DESPUES DE LA CONIZACIÓN.

A cada una de las pacientes, siguiendo las recomendaciones de las guías clínicas se le realizó citología, determinación de VPH y colposcopia a los 6 meses, sólo a los 3 meses, si los márgenes quirúrgicos estaban afectados. A los 12 meses la segunda determinación citológica, a los 18 meses citología y determinación de VPH y a los 24 meses nueva citología y determinación de VPH. En mujeres que presentaban VPH positivo o una citología con el resultado de ASC-US o mayor se realizaba colposcopia con estudio endocervical citológico o histológico.

ENFERMEDAD RESIDUAL /RECURRENTE: diagnosticar una lesión intraepitelial confirmada con biopsia dirigida por colposcopia o toma endocervical durante el periodo de seguimiento después de una conización.

4.- VARIABLES.

Las variables del estudio son:

4.1.-Variables pronósticas demográficas: edad

4.2.- Variables diagnósticas: Citología, estudio molecular de VPH, biopsia cervical e histología de la pieza de conización, márgenes afectos

4.3. Variables del tratamiento y pronósticas de enfermedad residual o persistente: márgenes afectos, legrado postconización, profundidad de la pieza de conización, volumen de la pieza de conización, citología postconización y VPH postconización.

- EDAD: expresada en años; en el momento del diagnóstico de la lesión cervical y que aparecía en la historia de la paciente. Se analizó en primer lugar como variable cuantitativa. En segundo lugar como edad ordinal, diferenciando tres grupos de edad :< de 21 años, 21-50 años, > de 50 años, debido a la distinta capacidad de aclaramiento del VPH en función de la edad. En tercer lugar se analizó esta variable como edad binaria: ≤ de 35 años,> de 35 años, dada la relación establecida entre la conización y los resultados adversos obstétricos y perinatales unido al retraso de los deseos genésicos por encima de los 35 años. .
- CITOLOGÍA ANTES DE LA CONIZACIÓN: Clasificadas según el sistema Bethesda 2001 ^[64] y analizada como variable binaria : Alto grado (CIN 2+, CIN 3) y Bajo grado (LSIL, ASC-US, ASC-H)
- VPH ANTES DE LA CONIZACIÓN: Estudio molecular del genotipo de VPH antes de la cirugía.
Se estudió en primer lugar la distribución de genotipos de VPH agrupándolos en:
 - VPH 16
 - VPH 18
 - VPH 16 Y 18.
 - VPH-AR no 16/18
 - VPH 16 o 18 y otros serotipos de VPH-AR
 - VPH- AR Múltiple (no 16 ni 18)Se analizó esta variable de forma binaria:
 - Positivo VPH 16 y18 /Negativo
 - VPH 16 y 18Se estudió la infección por un genotipo/coinfección.
- BIOPSIA CERVICAL ANTES DE LA CONIZACIÓN
- DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN.
- MÁRGENES AFECTOS: en la pieza definitiva de la conización se estudió si los márgenes eran afectos o no afectos. Se profundizó si la afectación era margen endocervical, margen exocervical o ambos márgenes.

- LEGRADO ENDOCERVICAL
- PROFUNDIDAD DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN: definida como la distancia en altura de la pieza de conización expresada en mm.
Se estudiaron respecto a 2 puntos de corte: 8mm, distancia mínima necesaria para garantizar la extirpación de la lesión, y 10mm.
- VOLUMEN DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN: definida por la fórmula:
y expresada en cm^3 .

Un cono es por definición toda superficie reglada conformada por el conjunto de rectas que confluyen en un punto único (vértice) e intersecan a una circunferencia no coplanaria.

El eje del cono es una línea que va desde el vértice hasta el centro de la base. En geometría básica es un círculo y el vértice es perpendicular al plano de la base, en la mayoría de los conos se asume que son conos circulares. Pero en un cono oblicuo la línea que une el vértice con el centro de la base no es el eje.

Un cono con el vértice seccionado es un cono truncado. Los conos circulares y los conos elípticos tienen bases circulares o elípticas. El radio de la base de un cono circular es el radio de su base a menudo simplificado como radio del cono. El volumen de un cono sólido es un tercio del área de su base (b) multiplicado por la altura (h , la distancia perpendicular desde el vértice a la base) expresado como $V = \frac{1}{3} \times b \times h$. En un cono circular con radio (r) y altura (h) $V = \frac{1}{3} \times \pi \times r^2 \times h$ [137] [138].

Ilustración 20. Cono con base circular y cono truncado.

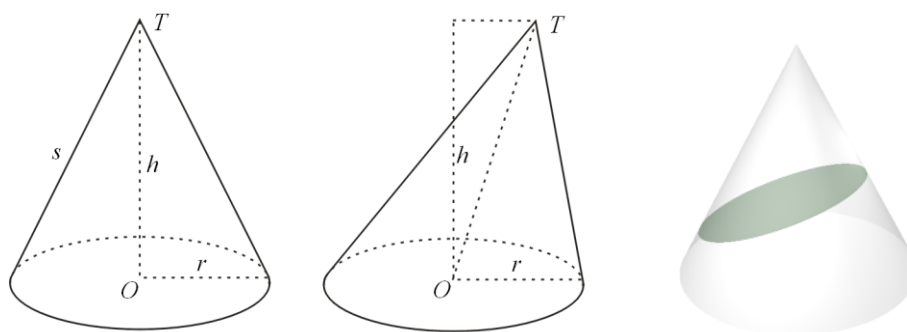


Ilustración 21. Formula de Volumen del cono truncado



En el caso del cono truncado el volumen se calcula mediante la fórmula matemática: – siendo R = radio mayor de la base del cono y r= el radio menor de la base, y h= altura g= generatriz.

En la práctica clínica se observan distintas formas en las piezas de conización. Así es común la forma de corte en “platillo” o laminado en piezas de conización con lesiones de bajo grado, sobre todo en mujeres jóvenes con lesiones amplias exocervicales y en cambio, conos cilíndricos si la lesión es una neoplasia glandular intraepitelial o se sospecha un carcinoma microinvasivo de cérvix. Aunque la mayoría de los conos obtenidos en la práctica clínica son circulares a menudo el diámetro transversal y el longitudinal no son de igual tamaño.

El trabajo de Phadnis y cols ^[139] postulaba que una pieza de conización cervical era geométricamente como una hemielipsiode más que un cono circular. De modo que los parámetros a, b y c son a menudo desiguales. Así el volumen de la pieza de conización fue calculado usando la fórmula matemática: $\frac{1}{2} \times \frac{4}{3} \times \pi \times \frac{a}{2} \times \frac{b}{2} \times c$ (como si la altura del cono fuera más un radio de la elipse que un diámetro, siendo a= diámetro transversal, b= el diámetro longitudinal y c= la profundidad del cono).

Ilustración 22. Elipse.

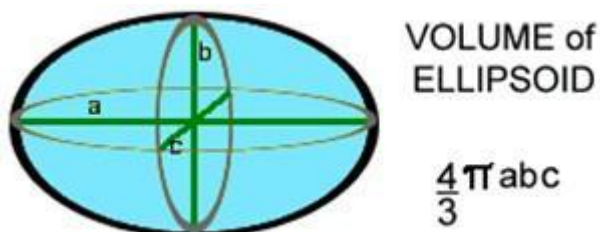
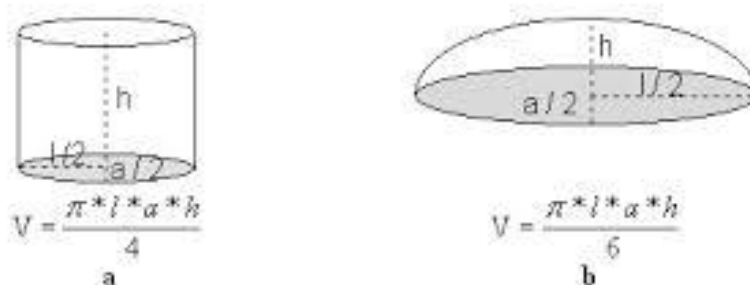


Ilustración 23. Hemielipse y volumen.

Figura 2. Formas idealizadas de cada especie del género *Ircinia* y sus fórmulas volumétricas.

- PRIMERA CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN: estudio citológico a los 3 meses si bordes quirúrgicos afectados y a los 6 meses si bordes quirúrgicos libre. Clasificadas según el sistema Bethesda 2001 ^[64] y analizada como variable binaria : Alto grado (CIN 2+, CIN 3) y Bajo grado (LSIL, ASC-US, ASC-H)
- SEGUNDA CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN: a 12 meses de la conización
- TERCERA CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN: a 18 meses de la conización
- PRIMERA DETERMINACIÓN DE VPH POSTCONIZACIÓN: estudio molecular del genotipo de VPHa los 6 meses de la conización. Se define como Negativo la ausencia de VPH y Positivo: la presencia de VPH, y de éstos casos con VPH positivo se estudió la distribución de genotipos.
- SEGUNDA DETERMINACIÓN DE VPH POSTCONIZACIÓN : Estudio molecular del genotipo de VPHa los 18 meses de la conización
- TERCERA DETERMINACIÓN DE VPH POSTCONIZACIÓN : Estudio molecular del genotipo de VPHa los 24 meses de la conización

Todas estas variables fueron recogidas y analizadas en pacientes con enfermedad residual/recurrente y en aquellas libres de enfermedad residual o recurrente.

5.-ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.

La descripción de variables cuantitativas se realiza con índices de tendencia central y de dispersión, ya sean basadas en valores (media y desviación estándar) o en ordenaciones (mediana y amplitud intercuartil) según cumplan o no la normalidad respectivamente. Su representación gráfica se hace con Histogramas y Diagramas de Caja. La descripción de variables categóricas se realiza con frecuencias absolutas y relativas en porcentajes. Su representación gráfica se hace con Diagramas de barras.

Las relaciones entre variables categóricas se analizan mediante la comparación de proporciones con la prueba de Chi-cuadrado de Pearson, siempre que existan menos del 20% de casillas de la tabla de contingencia con frecuencias esperadas

menor de 5. Se utiliza la prueba exacta de Fisher bilateral en el caso de no poder aplicarse la prueba Chi-cuadrado de Pearson (más del 20% de casillas de la tabla de contingencia tienen frecuencias esperadas menor de 5).

La relación entre una variable exposición categórica y una respuesta cuantitativa se analiza mediante la comparación de medias. Para la comparación de dos medias se utiliza la prueba t de Student-Fisher para muestras independientes si se cumple la condición de normalidad. Según cumplan o no la igualdad de varianzas se emplea la prueba t de Student-Fisher para grupos independientes para varianzas homogéneas o para varianzas no homogéneas, respectivamente. En caso de no cumplir la condición de normalidad, la comparación de dos medias se realiza con la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney.

La comparación de más de dos medias se realiza mediante el análisis de la varianza (ANOVA) en el caso de cumplirse las condiciones de normalidad y homogeneidad de varianzas. En caso de no cumplirse estas condiciones se realiza con la prueba no paramétrica H de Kruskal-Wallis.

La normalidad se evalúa con la prueba de Kolmogorov-Smirnov con la corrección de significación de Lilliefors para muestras grandes, o mediante la prueba de Shapiro-Wilks para muestras pequeñas. La igualdad de varianzas se analiza con la prueba de Levene.

La relación entre dos variables cuantitativas se evalúa con el coeficiente de correlación de Pearson si se cumple la normalidad, con el coeficiente de correlación no paramétrico de Spearman si no se cumple la normalidad y con la regresión lineal simple. Las condiciones de aplicación de la regresión lineal simple (linealidad, independencia, normalidad e igualdad de varianzas) se evalúan mediante el análisis de los residuales.

Se ha realizado análisis multivariante utilizando la Regresión Logística Binaria, partiendo de un modelo máximo con las variables Edad, Márgenes afectos, Profundidad y HPV postconización, y retirando variables por criterio de significación estadística.

El tratamiento estadístico se ha realizado el paquete estadístico SPSS, versión 18 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Se consideran significativos valores de $P < 0,05$.

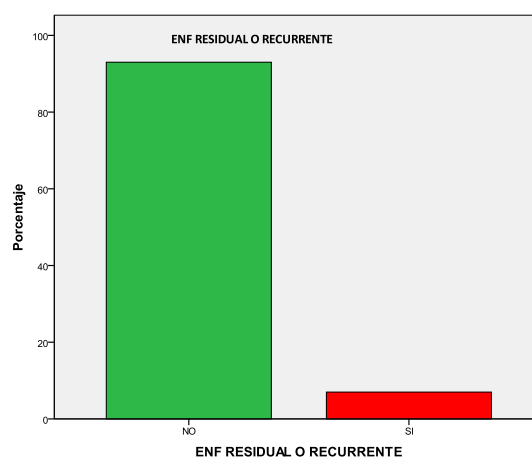
IV-RESULTADOS

El total de la muestra fue una N= 260 pacientes a las que se le realizó una conización con asa de diatermia. En el seguimiento después de la conización hubo 17 casos que no continuaron con el seguimiento, siendo por tanto a partir de ese momento el número de pacientes analizados N= 243, de las cuales no presentaron enfermedad recurrente/residual 226 pacientes y sí presentaron 17 pacientes.

Tabla 6. Tabla de frecuencias. Enfermedad residual/recurrente

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	NO	226	86,9	93,0	93,0
	SI	17	6,5	7,0	100,0
	Total	243	93,5	100,0	
Perdidos	PERDIDOS	17	6,5		
Total		260	100,0		

Ilustración 24. Diagrama de barras. Enfermedad residual/recurrente



1.-EDAD.

1.1. EDAD VARIABLE CUANTITATIVA.

La media de edad en las pacientes de la muestra fue de 35,2 años. La mediana fue de 33 años con un rango de 19 a 84 años.

El rango intercuantílico o amplitud intercuartílica (AIQ) fue 13 años, $Q1 = 28$ y $Q3=41$, es decir el 75 % de las pacientes se encontraban entre 28 y 41 años.

Ilustración 25.Histograma: edad de la muestra

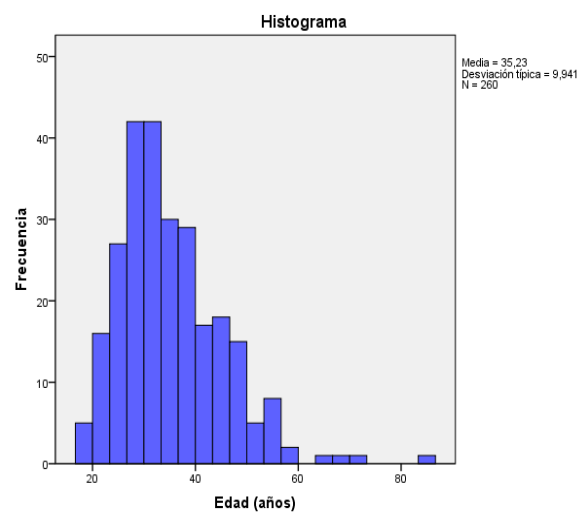
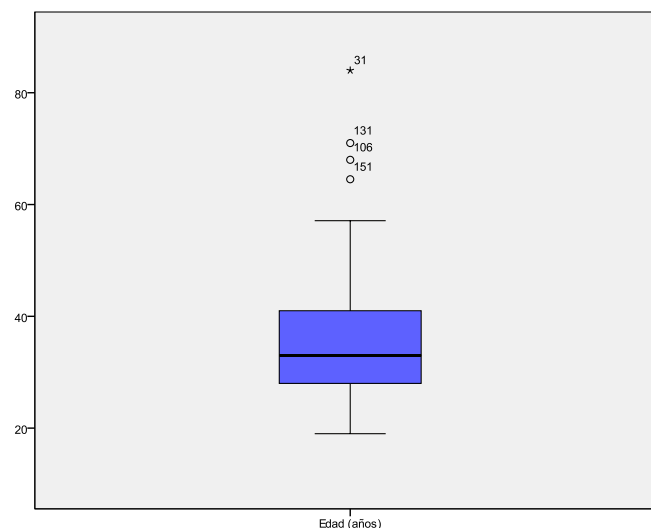


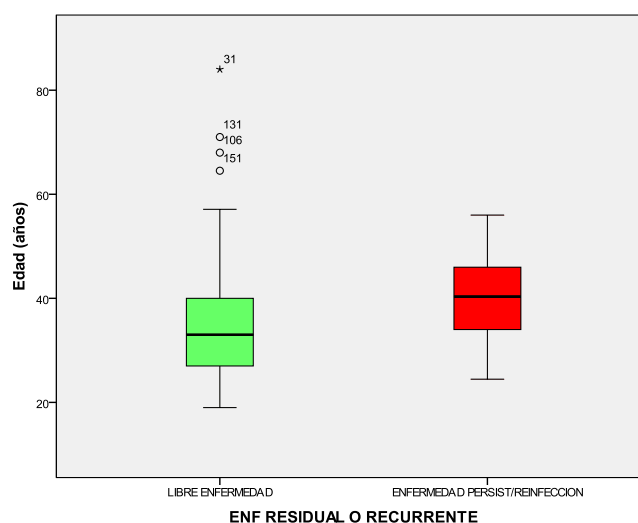
Ilustración 26.Diagrama de caja. Edad de la muestra



El grupo de pacientes que no presentaron enfermedad residual/recurrente tuvo una media de edad de 34,95 años, una mediana de 33, y $Q1=27$ y $Q3=40$, mientras que

en el grupo de pacientes con enfermedad residual/recurrente la media fue de 40,02 años, la mediana de 40,32 y Q1=32 y Q3= 47,99.

Ilustración 27. Diagrama de cajas. Edad. Pacientes Libres de enfermedad vs pacientes con Enfermedad residual/recurrente.



La edad fue un factor de riesgo para enfermedad residual/recurrente que presentó significación estadística con $p=0,016$. La diferencia de medias es de 5,25 con un intervalo de confianza (IC) del 95% 0,4-10.

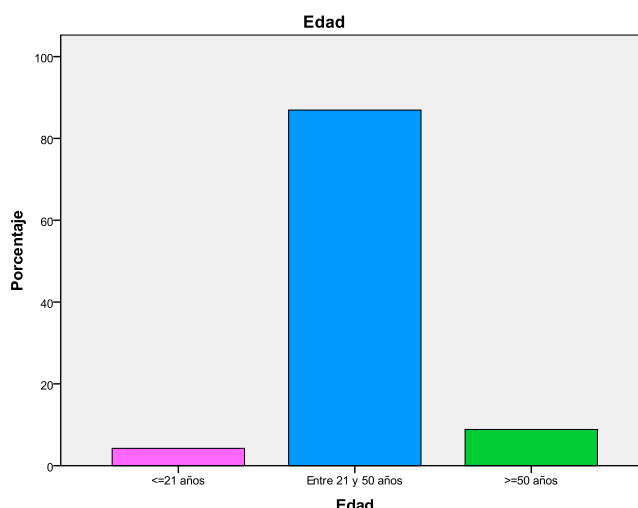
1.2.-EDAD ORDINAL

El 86 % de las pacientes se encontró entre 21 y 50 años. Tan sólo se realizaron 26 conizaciones con asa de diatermia en pacientes mayores de 50 años y 11 conizaciones en mujeres menores de 21 años (4,2 %).

Tabla 7. Tabla de contingencia. Edad ordinal.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	<=21 años	11	4,2	4,2	4,2
	Entre 21 y 50 años	226	86,9	86,9	91,2
	>=50 años	23	8,8	8,8	100,0
	Total	260	100,0	100,0	

Ilustración 28. Diagrama de barras: edad ordinal de la muestra



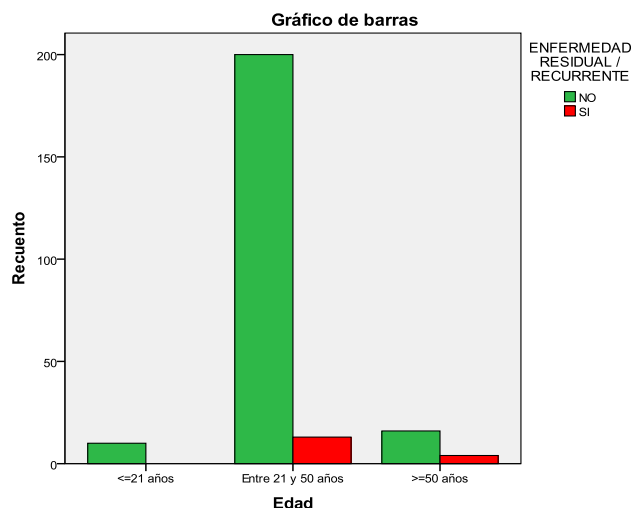
Al realizar la comparativa de los casos libre de enfermedad frente a los de enfermedad residual /recurrente, el porcentaje de pacientes con enfermedad residual o recurrente aumentó a medida que aumentaba la edad de las pacientes. En las pacientes < de 21 años el 100 % estuvieron libre de enfermedad, no existiendo ningún caso con enfermedad residual o recurrente. En el grupo de edad de 21 a 50 años, el 94% de las pacientes no presentó enfermedad residual/recurrente frente al 6% con enfermedad residual o recurrente. En el grupo de > de 50 años el 80% no presentó enfermedad residual/recurrente frente al 20% que sí la presentó.

Tabla 8. Tabla de contingencia: Edad ordinal. Enfermedad residual/recurrente.

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			SI	NO	
Edad	<=21 años	Recuento	10	0	10
		% dentro de Edad	100,0%	0,0%	100,0%
	Entre 21 y 50 años	Recuento	200	13	213
		% dentro de Edad	93,9%	6,1%	100,0%
	>=50 años	Recuento	16	4	20
		% dentro de Edad	80,0%	20,0%	100,0%
Total	Recuento		226	17	243
	% dentro de Edad		93,0%	7,0%	100,0%

En la comparativa usando la prueba del Chi cuadrado de Pearson la edad ordinal no presentó significación estadística ($p=0,76$).

Ilustración 29. Diagrama de barras agrupado: Edad ordinal .Enfermedad residual/recurrente(si/no).



1.3.-EDAD BINARIA-

El 58,1% tenía una edad menor o igual a 35 años en la fecha de realización de la conización y el 41,9 % tenía una edad mayor de 35 años.

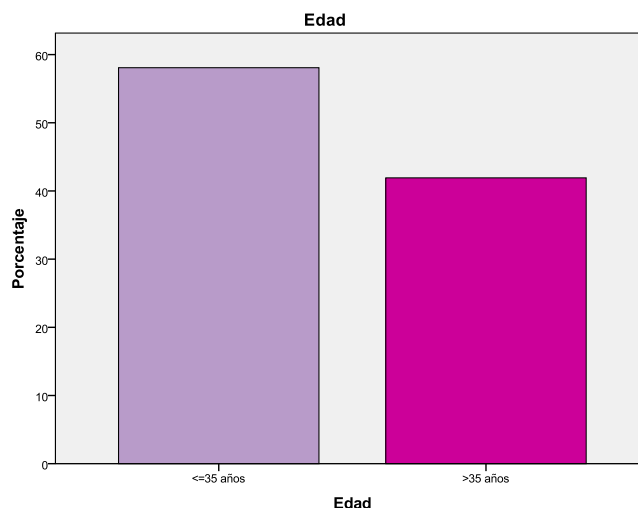
Tabla 9. Tabla de frecuencia: Edad binaria \leq o $>$ 35 años.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	≤ 35 años	151	58,1	58,1	58,1
	> 35 años	109	41,9	41,9	100,0
	Total	260	100,0	100,0	

Tabla 10. Tabla de contingencia: Edad \leq o $>$ de 35 años .Enfermedad residual/recurrente.

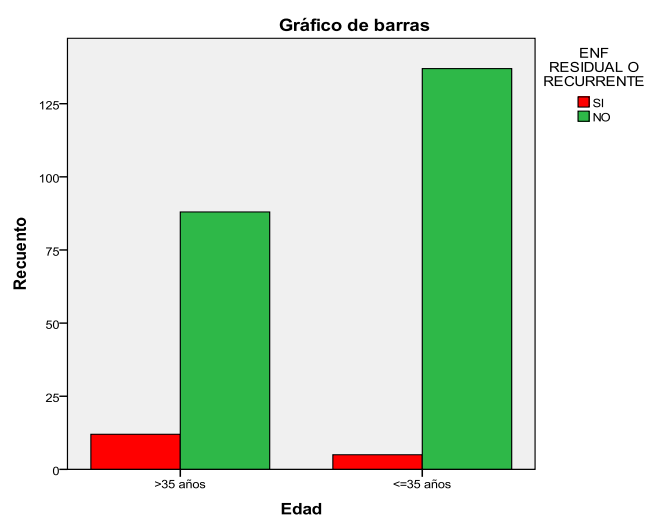
			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			SI	NO	
Edad	>35 años	Recuento	12	88	100
		% dentro de Edad	12,0%	88,0%	100,0%
	<=35 años	Recuento	5	137	142
		% dentro de Edad	3,5%	96,5%	100,0%
Total	Recuento	17	225	242	
	% dentro de Edad	7,0%	93,0%	100,0%	

Ilustración 30. Diagrama de barras: edad binaria.



En la comparativa, las pacientes \leq de 35 años no presentaron enfermedad residual/recurrente en el 96,5% de los casos, y por tanto sólo el 3,5% la presentó. Sin embargo en las pacientes $>$ de 35 años, el 12% presentó enfermedad residual o recurrente y el 88% no.

La condición de tener \leq o $>$ de 35 años en el momento de la conización sí presentó significación estadística con una $p=0,011$. La Odd Ratio, fue 3,736 con (IC 95%) 1,2-10,97, hubo por tanto 3,7 veces más probabilidad de tener enfermedad residual/recurrente con una edad $>$ de 35 años. El RR fue 3,4 IC (95%) 1.2-9.3.

Ilustración 31. Diagrama de barras: Edad \leq o $>$ de 35 años .Enfermedad residual/recurrente

2.-CITOLOGIA ANTES DE LA CONIZACIÓN.

2.1.-CITOLOGIA PRECONIZACIÓN.

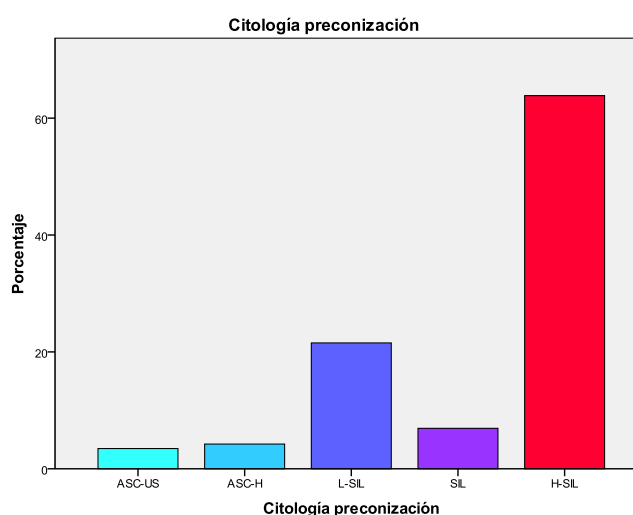
En el estudio previo a la conización la lesión citológica más frecuente fue el H-SIL, con un 63,8% del total de casos, siendo L-SIL el segundo hallazgo más frecuente en el 21,5% de los casos.

Un 6,9% presentó lesión citológica con diagnóstico de SIL, sin categorización del mismo siendo la citología con ASC-US el 3,5% de todas las pacientes conizadas.

Tabla 11. Tabla de frecuencias: Citología preconización

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	ASC-US	9	3,5	3,5	3,5
	ASC-H	11	4,2	4,2	7,7
	L-SIL	56	21,5	21,5	29,2
	SIL	18	6,9	6,9	36,2
	H-SIL	166	63,8	63,8	100,0
	Total	260	100,0	100,0	

Ilustración 32. Diagrama de barras: Citología preconización



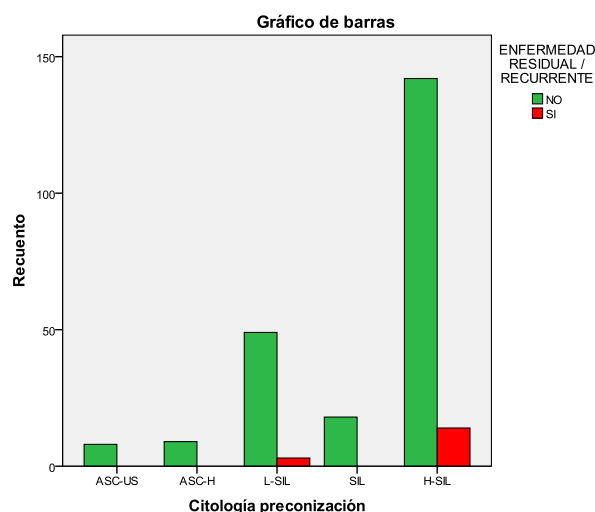
En el análisis comparativo, se muestra como cambió la distribución en la cohorte de pacientes libres de enfermedad frente a las que presentaban enfermedad residual/recurrente. Todas las pacientes con una citología antes de la conización con

resultado de ASC-US estaban libres de enfermedad al igual que aquellas con citología de resultado ASC-H y SIL. En el caso de L-SIL hubo 49 casos (94,2%) sin enfermedad residual/recurrente y un 5,8% con enfermedad residual/ recurrente. Con el resultado de H-SIL hubo un 91% sin enfermedad residual/recurrente y un 9% con enfermedad residual o recurrente. Esta diferencia de porcentajes no presentó significación estadística, $p=0,574$.

Tabla 12. Tabla de contingencia. Citología preconización .Enfermedad residual/recurrente.

				ENF RESIDUAL/RECURRENTE		Total
				NO	SI	
Citología preconización	ASC-US	Recuento		8	0	8
		% dentro de Citología preconización		100,0%	0,0%	100,0%
	ASC-H	Recuento		9	0	9
		% dentro de Citología preconización		100,0%	0,0%	100,0%
	L-SIL	Recuento		49	3	52
		% dentro de Citología preconización		94,2%	5,8%	100,0%
Total	SIL	Recuento		18	0	18
		% dentro de Citología preconización		100,0%	0,0%	100,0%
	H-SIL	Recuento		142	14	156
		% dentro de Citología preconización		91,0%	9,0%	100,0%
		Recuento		226	17	243
		% dentro de Citología preconización		93,0%	7,0%	100,0%

Ilustración 33. Diagrama de barras agrupadas: Citología preconización . Enfermedad residual/recurrente



2.2.-CITOLOGIA PRECONIZACIÓN BINARIA: ALTO GRADO / BAJO GRADO.

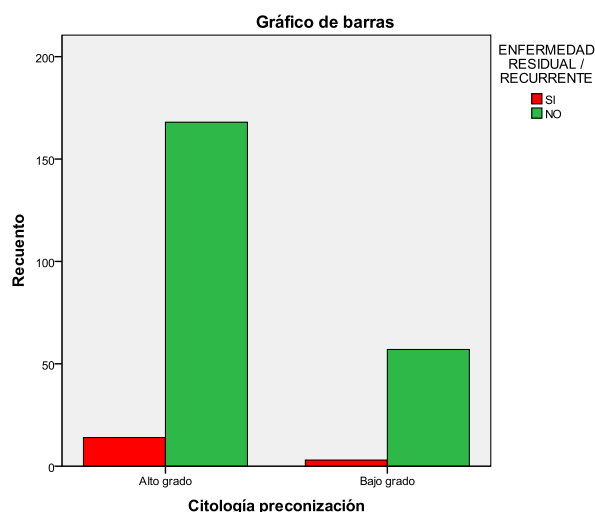
Si se analiza la variable citología preconización como una variable binaria: citología de alto y bajo grado, encontramos que la citología de alto grado fue diagnosticada en el 92,3% de las pacientes sin enfermedad residual/recurrente y en el 7,7% de las pacientes con enfermedad residual/recurrente. Y la citología de bajo grado se presentó en el 95% de pacientes sin enfermedad residual/recurrente y en el 5% en pacientes con enfermedad residual/recurrente.

Esta variable no presentó tampoco significación estadística, $p = 0,574$.

Tabla 13. Tabla de contingencia. Citología Alto /Bajo grado. Enfermedad residual/recurrente.

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			SI	NO	
Citología preconización	Alto grado	Recuento	14	168	182
		% dentro de Citología preconización	7,7%	92,3%	100,0%
	Bajo grado	Recuento	3	57	60
		% dentro de Citología preconización	5,0%	95,0%	100,0%
Total		Recuento	17	225	242
		% dentro de Citología preconización	7,0%	93,0%	100,0%

Ilustración 34. Diagrama de barras. Citología alto grado/bajo grado, Enfermedad residual/ recurrente



3.-VPH ANTES DE LA CONIZACIÓN.

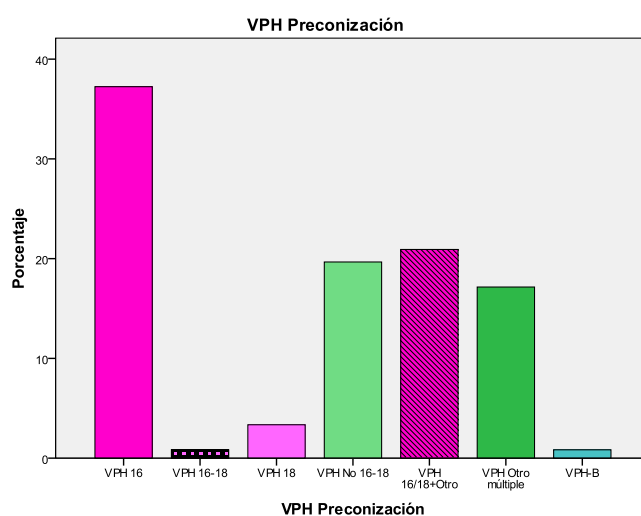
3.1.- DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS.

Se identificó el genotipo de VPH previo a la conización en 239 mujeres, un 91,9%, y en 21 casos no fue solicitado el estudio. El genotipo 16 fue el más frecuente de todos, detectándose en 89 casos, lo que supuso un 37,2% de los casos. El VPH 18 sólo estuvo presente en 8 pacientes que correspondía al 3,3% de los casos. Sin embargo, la coinfección por VPH 16 o 18 con cualquier otro tipo de VPH de alto riesgo se presentó en 50 casos, un 20,9% del total y fue la situación más frecuente después de la infección aislada por VPH 16.

Tabla 14. Tabla de frecuencias: VPH preconización

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	VPH 16	89	34,2	37,2	37,2
	VPH 16-18	2	,8	,8	38,1
	HPV 18	8	3,1	3,3	41,4
	HPV NO16-18	47	18,1	19,7	61,1
	VPH16/18+OTRO	50	19,2	20,9	82,0
	VPH OTRO MULTPL	41	15,8	17,2	99,2
	VPH-B	2	,8	,8	100,0
	Total	239	91,9	100,0	
Perdidos	SYSMIS	21	8,1		
Total		260	100,0		

Ilustración 35. Diagrama de barras. VPH Preconización

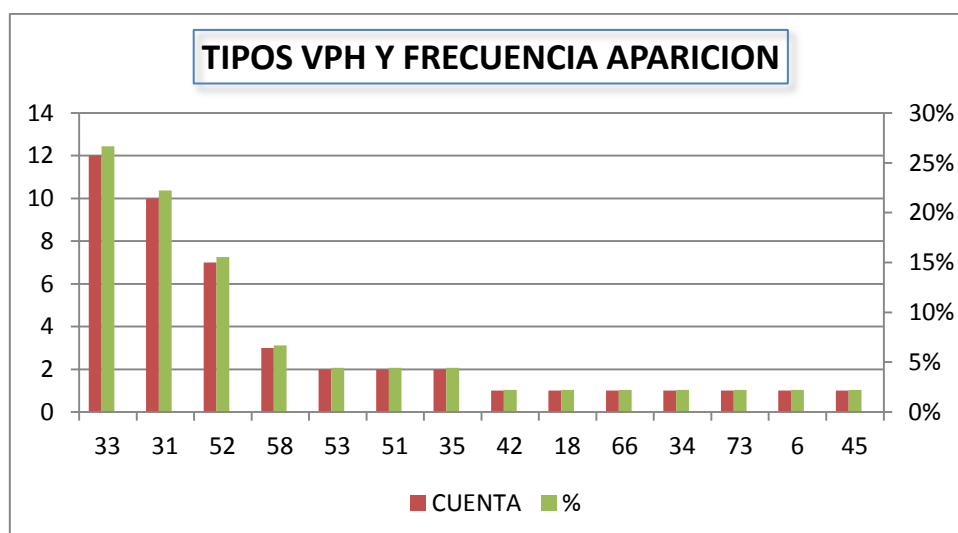


La infección por un único genotipo distinto del VPH 16 o 18 ocurrió en 47 casos, lo que supuso un 18% y su distribución fue la reflejada en la tabla 15:

Tabla 15. Tabla de frecuencias: VPH preconización, 1 genotipo.

VPH	N(CASOS)	%
33	12	26,67%
31	10	22,22
52	7	15,56
58	3	6,67
53	2	4,44
51	2	4,44
35	2	4,44
42	1	2,22
66	1	2,22
34	1	2,22
73	1	2,22
45	1	2,22

Ilustración 36. Distribución infección por un solo genotipo VPH no 16 ni 18



En el análisis comparativo, la N= 223 (33 casos perdidos) y el resultado fue el que se presenta en la siguiente tabla de contingencia.

Tabla 16. Tabla de contingencia. VPH preconización. Enfermedad residual/ recurrente

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			NO	SI	
VPH Preconización	VPH 16	Recuento	76	8	84
		% dentro de VPH Preconización	90,5%	9,5%	100,0%
	VPH 16-18	Recuento	2	0	2
		% dentro de VPH Preconización	100,0%	0,0%	100,0%
	VPH 18	Recuento	7	0	7
		% dentro de VPH Preconización	100,0%	0,0%	100,0%
	VPH 16-18	Recuento	42	3	45
		% dentro de VPH Preconización	93,3%	6,7%	100,0%
	VPH 16/18+Otro	Recuento	41	4	45
		% dentro de VPH Preconización	91,1%	8,9%	100,0%
VPH múltiple	VPH Otro	Recuento	37	1	38
		% dentro de VPH Preconización	97,4%	2,6%	100,0%
	VPH-B	Recuento	2	0	2
		% dentro de VPH Preconización	100,0%	0,0%	100,0%
Total			207	16	223
			92,8%	7,2%	100,0%

En las pacientes sin enfermedad residual/recurrente (207 casos), el VPH más frecuente encontrado fue el VPH 16, en 76 casos; en segundo lugar se encuentran las pacientes afectadas por un sólo genotipo distinto del VPH 16 /18 VPH en 42 casos y en tercer lugar por orden de frecuencia, se encuentran las pacientes con coinfección por los genotipos de VPH 16/18 con otros genotipos. En las pacientes con enfermedad residual/recurrente (17 casos), el VPH más frecuente fue el genotipo 16, en 8 casos seguido por la coinfección de 16/18 con otros genotipos en 4 casos.

En el análisis comparativo la infección por un tipo u otro de VPH antes de la conización no presentó significación estadística, ($p=0,794$) para padecer enfermedad residual/recurrente.

3.2. VPH 16/18.

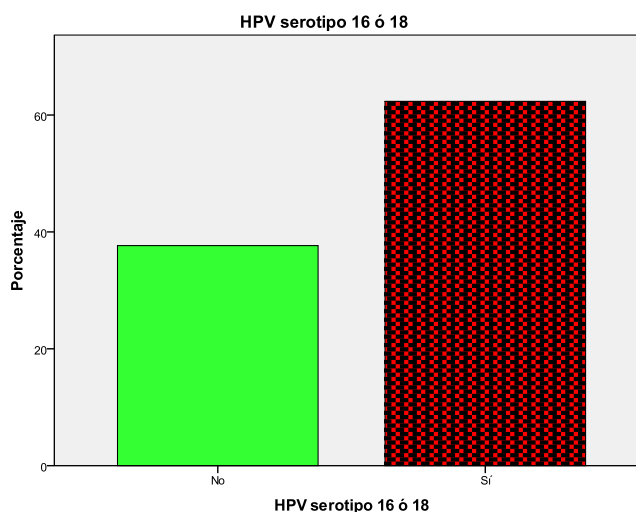
Se analizó la presencia de VPH 16/18 frente a aquellos casos donde no estaba presente.

El VPH 16 o 18, cómo único genotipo o como coinfección antes de la conización tuvo una frecuencia del 57,3%. Otro VPH distinto ocurrió en el 34,6%.

Tabla 17. Tabla de frecuencias. VPH preconización 16/18.

VPH 16 ó 18		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	No	90	34,6	37,7	37,7
	Sí	149	57,3	62,3	100,0
	Total	239	91,9	100,0	
Perdidos	Sistema	21	8,1		
Total		260	100,0		

Ilustración 37. Diagrama de barras. VPH Preconización 16/18.



En el análisis comparativo, las pacientes con enfermedad residual presentaron en un 8,7% el VPH 16/18 antes de la conización, frente al 4,8% en las pacientes sin enfermedad residual/recurrente.

Tabla 18. Tabla de contingencia. VPH preconización 16/18. Enfermedad residual/ recurrente

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			SI	NO	
VPH 16 ó 18	Sí	Recuento	12	126	138
		% dentro de VPH 16 ó 18	8,7%	91,3%	100,0%
	No	Recuento	4	80	84
		% dentro de VPH 16 ó 18	4,8%	95,2%	100,0%
Total		Recuento	16	206	222
		% dentro de VPH 16 ó 18	7,2%	92,8%	100,0%

En el análisis comparativo, la presencia de VPH 16/18 no presentó significación estadística, $p=0,27$.

3.3.-VPH UN GENOTIPO/COINFECCIÓN.

La distribución de las frecuencias de aparición entre infección por un único genotipo o varios fue: 56 % de las pacientes presentó infección por un sólo VPH y el 35,8 % presentó coinfección por varios genotipos de VPH. Con $N=231$, en 21 casos no se determinó el VPH.

Tabla 19. Tabla de frecuencia. VPH preconización Único/ Múltiple.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	VPH Único	146	56,2	61,1	61,1
	VPH Múltiple	93	35,8	38,9	100,0
	Total	239	91,9	100,0	
Perdidos	Sistema	21	8,1		
Total		260	100,0		

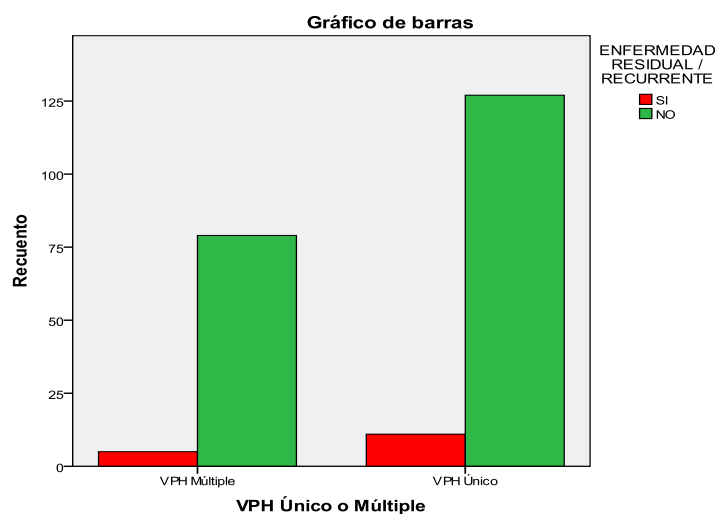
En el análisis comparativo, cómo se muestra en la tabla de contingencia, en las pacientes sin enfermedad residual recurrente, $n=206$, 127 presentaron un único genotipo de VPH y 79 casos infección múltiple. Las pacientes que presentaron enfermedad residual o recurrente, 16 casos, la mayoría, 11 casos, tuvieron infección por un único genotipo y 5 casos hubo coinfección por varios VPH.

El estudio comparativo no presentó significación estadística, $p=0,73$.

Tabla 20. Tabla de contingencia. VPH preconización Único/ Múltiple. Enfermedad residual/recurrente

			ENF. RESIDUAL /RECURRENTE		Total
			SI	NO	
VPH Único o Múltiple	VPH	Recuento	5	79	84
	Múltiple	% dentro de VPH Único o Múltiple	6,0%	94,0%	100,0%
	VPH Único	Recuento	11	127	138
		% dentro de VPH Único o Múltiple	8,0%	92,0%	100,0%
Total		Recuento	16	206	222
		% dentro de VPH Único o Múltiple	7,2%	92,8%	100,0%

Ilustración 38. Diagrama de barras agrupado. VPH Preconización Único/Múltiple.



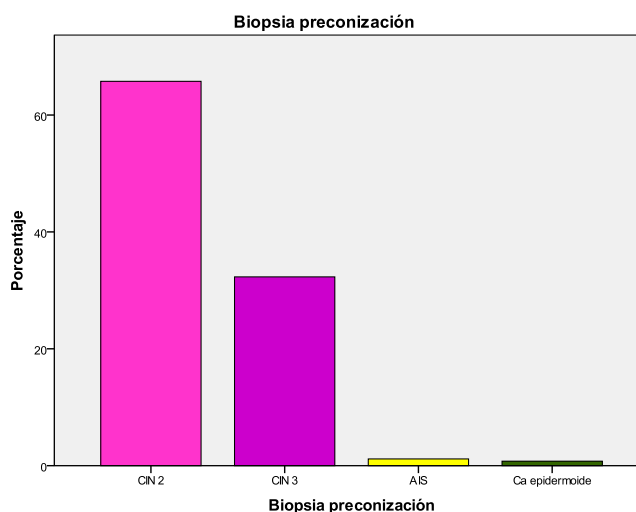
4.-BIOPSIA ANTES DE LA CONIZACIÓN

La lesión histológica más frecuente en toda la serie fue el H-SIL, siendo CIN 2 en 171 casos (32,3%) y CIN 3 en 83 casos (84%). Se detectaron 3 casos de adenocarcinoma in situ y 2 casos de Carcinoma epidermoide infiltrante.

Tabla 21. Tabla de frecuencias. Biopsia preconización.

			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	CIN 2		171	65,8	65,8	65,8
	CIN 3		84	32,3	32,3	98,1
	AIS		3	1,2	1,2	99,2
	Ca epidermoide		2	,8	,8	100,0
	Total		260	100,0	100,0	

Ilustración 39. Diagrama de barras. Biopsia preconización.



En el estudio comparativo, la lesión histológica más frecuente fue el CIN 2 tanto en pacientes sin enfermedad residual/recurrente (148 casos) como en pacientes con enfermedad residual (10 casos). La segunda en frecuencia fue el CIN 3, 74 casos en pacientes sin enfermedad residual/recurrente y 7 casos en pacientes con enfermedad residual/recurrente.

No hubo casos de adenocarcinoma in situ ni carcinoma epidermoide en las pacientes con enfermedad residual/recurrente. No hubo significación estadística $p=0,699$.

Tabla 22. Tabla de contingencia. Biopsia preconización. Enfermedad residual /recurrente

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			NO	SI	
Biopsia preconización	CIN 2	Recuento	148	10	158
		% dentro de Biopsia preconización	93,7%	6,3%	100,0%
	CIN 3	Recuento	74	7	81
		% dentro de Biopsia preconización	91,4%	8,6%	100,0%
	AIS	Recuento	2	0	2
		% dentro de Biopsia preconización	100,0%	0,0%	100,0%
	Ca epidermoide	Recuento	2	0	2
		% dentro de Biopsia preconización	100,0%	0,0%	100,0%
Total	Recuento	226	17	243	
	% dentro de Biopsia preconización	93,0%	7,0%	100,0%	

5.-DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DE LA CONIZACIÓN

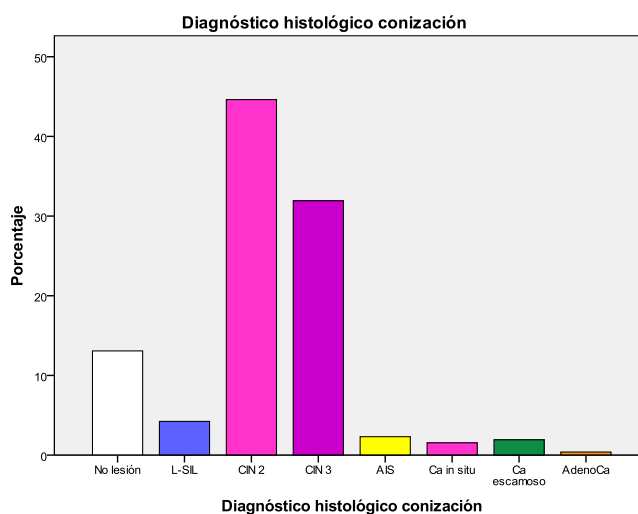
La lesión histológica más frecuente en la pieza de conización fue H-SIL en 199 casos, lo que supuso un 76,5% de los casos distribuyéndose en 116 casos de CIN 2 (44,6%) y 83 casos (31,9%) de CIN 3. En 34 casos, un 13,1 % del total, no se halló lesión residual en la pieza de conización, y en 11 casos el resultado fue de L-SIL, 4,2% del total.

Hubo 6 casos de AIS, 4 casos de carcinoma in situ, 5 casos de carcinoma epidermoide infiltrante (Ca. Escamoso) y 1 de adenocarcinoma.

Tabla 23. Tabla de frecuencias. Biopsia preconización

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	No lesión	34	13,1	13,1	13,1
	L-SIL	11	4,2	4,2	17,3
	CIN 2	116	44,6	44,6	61,9
	CIN 3	83	31,9	31,9	93,8
	AIS	6	2,3	2,3	96,2
	Ca in situ	4	1,5	1,5	97,7
	Ca escamoso	5	1,9	1,9	99,6
	Adenocarcinoma	1	,4	,4	100,0
	Total	260	100,0	100,0	

Ilustración 40. Diagrama de barras. Histología conización



Al realizar la distribución basándonos en las pacientes sin enfermedad residual/recurrente, N= 226, la lesión más frecuente fue CIN-2 (104 casos), seguida de CIN 3, (69 casos). Hubo 30 casos sin lesión y 11 casos con L-SIL. En las pacientes con enfermedad residual/recurrente(N=17), la lesión más frecuente fue CIN 3 (8 casos), seguida de CIN 2(7 casos).Hubo 2 casos con “ausencia de lesión”

Tabla 24. Tabla de contingencia. Histología conización. Enfermedad residual/recurrente.

			ENF RESIDUAL/ RECURRENTE		Total
			NO	SI	
Diagnóstico histológico conización	No lesión	Recuento	30	2	32
		% dentro de Diagnóstico histológico conización	93,8%	6,3%	100,0%
	L-SIL	Recuento	11	0	11
		% dentro de Diagnóstico histológico conización	100,0%	0,0%	100,0%
	CIN 2	Recuento	104	7	111
		% dentro de Diagnóstico histológico conización	93,7%	6,3%	100,0%
	CIN 3	Recuento	69	8	77
		% dentro de Diagnóstico histológico conización	89,6%	10,4%	100,0%
	AIS	Recuento	6	0	6
		% dentro de Diagnóstico histológico conización	100,0%	0,0%	100,0%
	Ca in situ	Recuento	4	0	4
		% dentro de Diagnóstico histológico conización	100,0%	0,0%	100,0%
	Ca escamoso	Recuento	2	0	2
		% dentro de Diagnóstico histológico conización	100,0%	0,0%	100,0%
Total	Recuento	226	17	243	
	% dentro de Diagnóstico histológico conización	93,0%	7,0%	100,0%	

Esta variable no tuvo significación estadística, $p=0,856$.

Se realizó un estudio comparativo entre las pacientes que presentaron piezas de conización con el diagnóstico histológico de no lesión y el resto. Tanto en las pacientes con enfermedad residual/recurrente como en las que no la presentaron, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas para un $p > 0,20$.

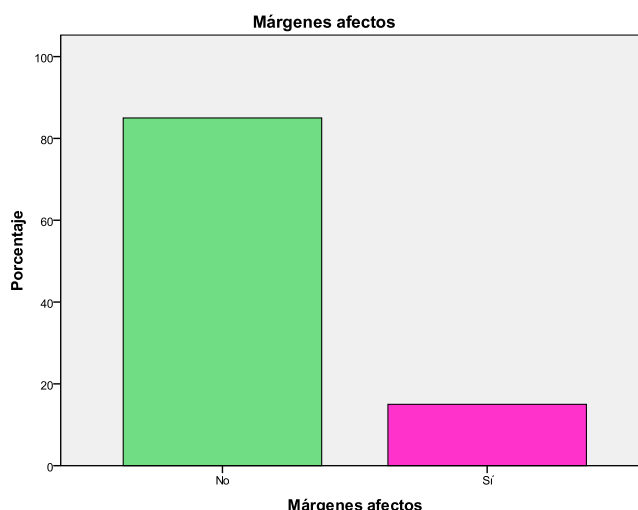
Tabla 25. Tabla de contingencia. Histología conización No lesión/ lesión

		Enfermedad Residual o Recurrente		Total
		Sí	No	
Diagnóstico histológico Lesión conización	Recuento	15	196	211
	% dentro de Diagnóstico histológico conización	7,1%	92,9%	100,0%
	No lesión Recuento	2	30	32
	% dentro de Diagnóstico histológico conización	6,3%	93,8%	100,0%
Total	Recuento	17	226	243
	% dentro de Diagnóstico histológico conización	7,0%	93,0%	100,0%

6.-MÁRGENES AFECTOS

De los 260 piezas de conización, en el 15% (39 casos) se encontraron los márgenes afectados y en el 85% estos márgenes no se encontraban afectados por la enfermedad. De las pacientes con márgenes afectados, el margen exocervical era el único afecto en el 10,25%, sólo 4 casos y el margen endocervical era el único afecto en 3 casos (7,6%) y en 32 casos (82%), estaba afecto tanto el margen exocervical como el endocervical.

Ilustración 41. Diagrama de barras. Márgenes afectados.



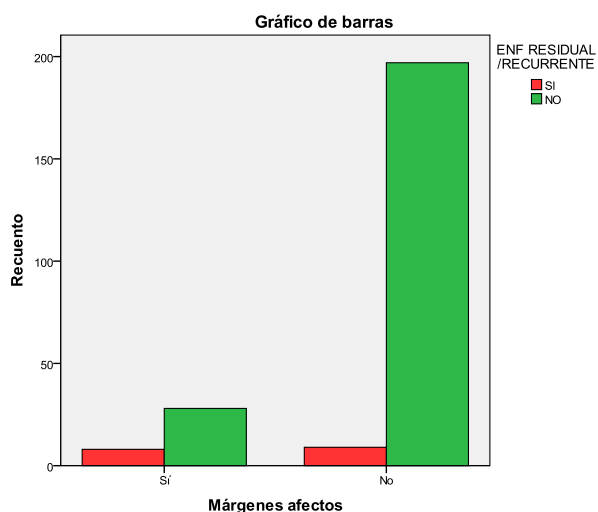
En el estudio comparativo de las pacientes con márgenes afectados, el 77,8% de los pacientes no presentó enfermedad después de la conización y el 22,2% sí. En las pacientes con bordes libres el 95,6% no presentó enfermedad residual/recurrente y el 4,4% sí. Esta variable sí presenta significación estadística con una $p=0,001$. La OR = 6,25 con IC (95%) de 2,2-17, 5. El RR =5,08 IC (95%) del 2,1-12,31.

Sin embargo el estudio comparativo de los márgenes afectados exocervicales y endocervicales, que se muestra a continuación en las correspondientes tablas de contingencia, no presentó significación estadística. Margen exocervical $p=0,566$ y margen endocervical $p=0,555$.

Tabla 26. Tabla de contingencia. Márgenes afectados. Enfermedad residual/recurrente.

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			SI	NO	
Márgenes afectados	Sí	Recuento	8	28	36
		% dentro de Márgenes afectados	22,2%	77,8%	100,0%
	No	Recuento	9	197	206
		% dentro de Márgenes afectados	4,4%	95,6%	100,0%
Total		Recuento	17	225	242
		% dentro de Márgenes afectados	7,0%	93,0%	100,0%

Ilustración 42. Diagrama de barras agrupadas. Márgenes afectos. Enfermedad residual/recurrente.



De las pacientes con afectación del margen exocervical ningún caso presentó enfermedad residual/recurrente.

Tabla 27. Tabla de contingencia. Afectación margen exocervical. Enfermedad residual/recurrente.

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			SI	NO	
AFECTACION MARGEN EXOCERVICAL	Sí	Recuento	0	5	5
		% dentro de AFECTACION MARGEN EXOCERVICAL	0,0%	100,0%	100,0%
	No	Recuento	8	23	31
		% dentro de AFECTACION MARGEN EXOCERVICAL	25,8%	74,2%	100,0%
Total	Recuento		8	28	36
	% dentro de AFECTACION MARGEN EXOCERVICAL		22,2%	77,8%	100,0%

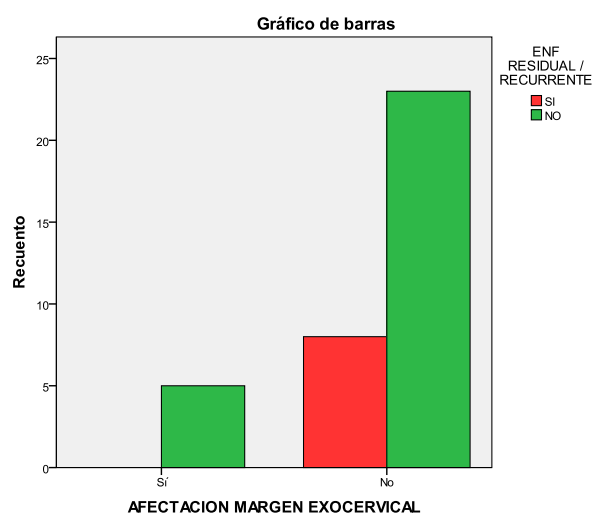
Sin embargo en relación con la afectación del margen endocervical, el 25% de las pacientes con enfermedad residual/recurrente presentaba en la pieza de conización el margen endocervical afecto, frente al 75% restante con márgenes endocervical libre de enfermedad.

Ninguna de las pacientes con margen endocervical libre, presentó enfermedad residual/recurrente.

Tabla 28. Tabla de contingencia. Afectación margen endocervical. Enfermedad residual/recurrente.

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			SI	NO	
AFECTACION MARGEN ENDOCERVICAL	Sí	Recuento	8	24	32
		% dentro de AFECTACION MARGEN ENDOCERVICAL	25,0%	75,0%	100,0%
	No	Recuento	0	4	4
		% dentro de AFECTACION MARGEN ENDOCERVICAL	0,0%	100,0%	100,0%
Total		Recuento	8	28	36
		% dentro de AFECTACION MARGEN ENDOCERVICAL	22,2%	77,8%	100,0%

Ilustración 43. Diagrama de barras agrupadas. Afectación Margen endocervical. Enfermedad residual/recurrente.



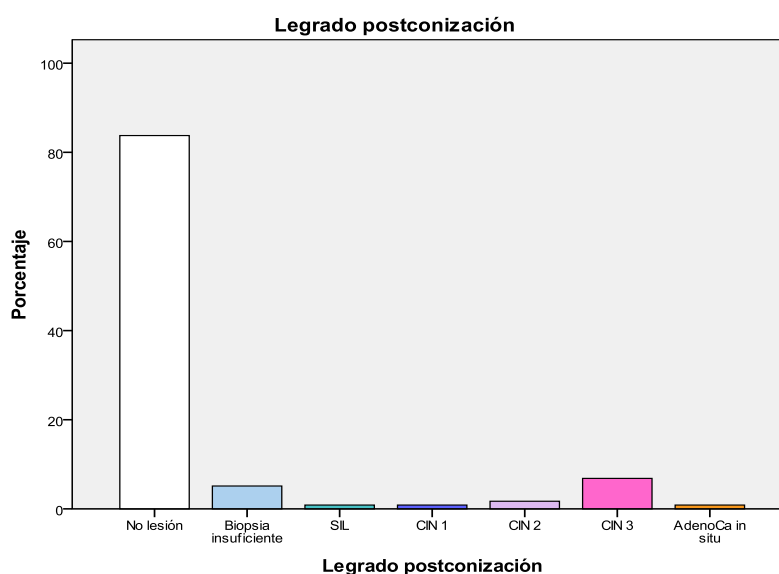
7.-LEGRADO POSTCONIZACIÓN.

Se realizó legrado postconización en 117 casos (45%) y no se realizó en 143 casos (55%). De aquellos en los que se realizó 98 casos no tuvieron lesión, 10 casos presentaron H-SIL (2 CIN 2, 8 CIN3) y en 6 casos, la muestra fue insuficiente.

Tabla 29. Tabla de frecuencia. Legrado postconización.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	No lesión	98	37,7	83,8	83,8
	Biopsia insuficiente	6	2,3	5,1	88,9
	SIL	1	,4	,9	89,7
	CIN 1	1	,4	,9	90,6
	CIN 2	2	,8	1,7	92,3
	CIN 3	8	3,1	6,8	99,1
	AdenoCa in situ	1	,4	,9	100,0
	Total	117	45,0	100,0	
Perdidos	Sistema	143	55,0		
Total		260	100,0		

Ilustración 44. Diagrama de barras. Legrado postconización.



En el estudio

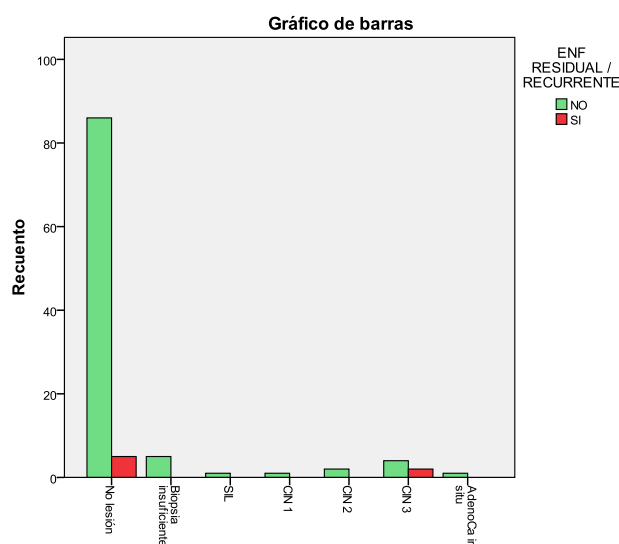
comparativo, sólo disponemos de una N= 107, donde las pacientes sin enfermedad residual recurrente, 100 casos, presentaron en su mayoría el diagnóstico de no lesión. En 5 casos la cantidad de material recogido mediante biopsia fue insuficiente para su análisis. Tan sólo obtuvimos 7 casos con enfermedad residual/recurrente que tuvieron legrado postconización de los cuales 5 no tuvieron lesión y 2 presentaron CIN 3.

No se obtuvo significación estadística.

Tabla 30.Tabla de contingencia Legrado postconización. Enfermedad residual/recurrente.

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			NO	SI	
Legrado postconización	No lesión	Recuento % dentro de Legrado postconización	86 94,5%	5 5,5%	91 100,0%
	Biopsia insuficiente	Recuento % dentro de Legrado postconización	5 100,0%	0 0,0%	5 100,0%
	SIL	Recuento % dentro de Legrado postconización	1 100,0%	0 0,0%	1 100,0%
	CIN 1	Recuento % dentro de Legrado postconización	1 100,0%	0 0,0%	1 100,0%
	CIN 2	Recuento % dentro de Legrado postconización	2 100,0%	0 0,0%	2 100,0%
	CIN 3	Recuento % dentro de Legrado postconización	4 66,7%	2 33,3%	6 100,0%
	AdenoCa in situ	Recuento % dentro de Legrado postconización	1 100,0%	0 0,0%	1 100,0%
Total			100 93,5%	7 6,5%	107 100,0%

Ilustración 45.Diagrama de barras agrupadas. Legrado postconización. Enfermedad residual/recurrente.

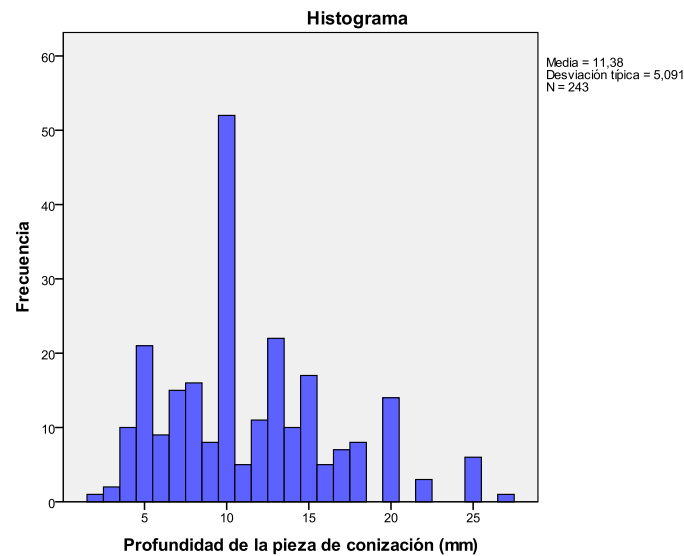


8.-PROFUNDIDAD DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN.

De los 243 casos donde se determinó la profundidad de la pieza de conización, la media fue de 11,22 mm, con un IC del (95%) 10,86- 11,87 mm. La mediana fue 10 mm y el Q1=8mm y Q3=15mm.

El histograma sería el siguiente:

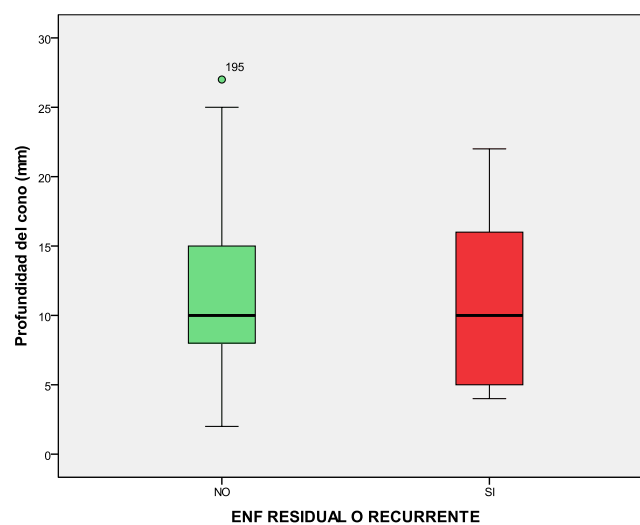
Ilustración 46. Histograma: Profundidad de la pieza de conización.



Cuando presentamos los valores de la media y la mediana, teniendo en cuenta la enfermedad residual/recurrente, la media fue de 11,50 mm en los que no presentaron enfermedad residual/recurrente y 11,35 mm en los que si la presentaron. Las medianas fueron iguales: de 10mm y la amplitud intercuartil (AIQ), en las pacientes que no tenían enfermedad residual/recurrente AIQ= 7 (Q1=8, Q3=15) y las que tenían enfermedad residual/recurrente AIQ=11 (Q1= 5, Q3 = 16)

No existieron por lo tanto diferencias estadísticamente significativas. Este resultado se muestra en el diagrama de cajas:

Ilustración 47. Diagrama de cajas. Profundidad de la pieza de conización. Enfermedad residual/recurrente.



Cuando se realizó un análisis teniendo como puntos de corte 8 mm y 10mm los resultados fueron que 75 casos (28%), presentaron una profundidad menor o igual de 8mm y 168 casos (64%), mayor de 8mm. Con el punto de corte de 10 mm, en 137 casos (52,7%) la profundidad del cono fue menor o igual de 10mm, y en 106 casos (40,8%) la profundidad fue mayor de 10mm.

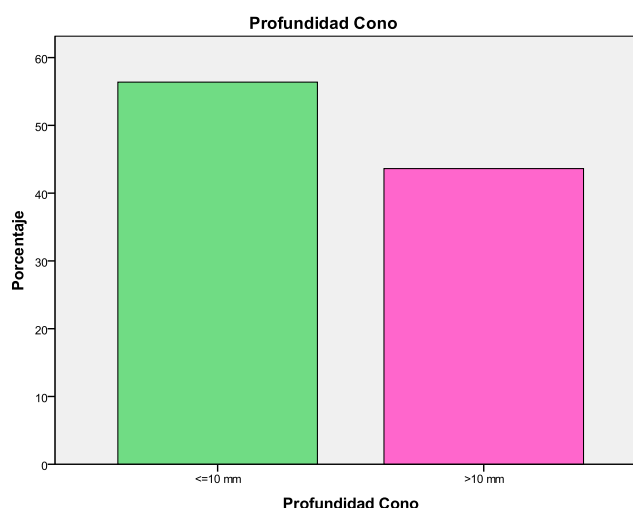
Tabla 31. Tabla de frecuencias. Profundidad de la pieza de conización \leq o $>$ de 8mm.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	≤ 8 mm	75	28,8	30,9	30,9
	> 8 mm	168	64,6	69,1	100,0
	Total	243	93,5	100,0	
Perdidos	Sistema	17	6,5		
Total		260	100,0		

Tabla 32. Tabla de frecuencias. Profundidad \leq o $>$ de 10mm.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	≤ 10 mm	137	52,7	56,4	56,4
	> 10 mm	106	40,8	43,6	100,0
	Total	243	93,5	100,0	
Perdidos	Sistema	17	6,5		
Total		260	100,0		

Ilustración 48. Diagrama de barras. Profundidad \leq o $>$ de 10mm



En el estudio comparativo, las pacientes con piezas de conización con una profundidad mayor de 8 mm presentaron enfermedad residual/recurrente en el 6,4%, mientras que en las de profundidad menor o igual a 8mm la presentaron en un 10%. Por tanto las pacientes sin enfermedad residual/recurrente fueron el 93% en las

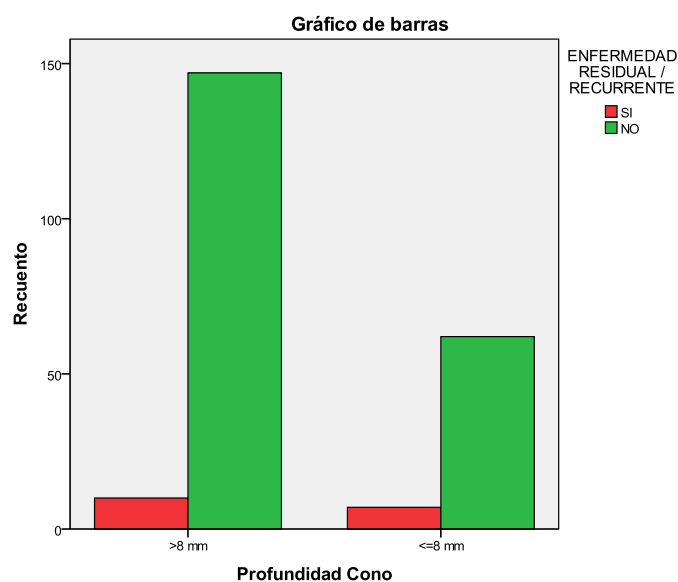
conizaciones con una profundidad mayor de 8mm y el 89,9% en las conizaciones con una profundidad menor o igual de 8mm.

Tabla 33. Tabla de contingencia. Profundidad del cono \leq ó $>$ de 8mm. Enfermedad residual/recurrente

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			SI	NO	
Profundidad	>8 mm	Recuento	10	147	157
		% dentro de Profundidad Cono	6,4%	93,6%	100,0%
	≤ 8 mm	Recuento	7	62	69
		% dentro de Profundidad Cono	10,1%	89,9%	100,0%
Total		Recuento	17	209	226
		% dentro de Profundidad Cono	7,5%	92,5%	100,0%

Sin embargo ,que la pieza de conización fuera mayor o menor de 8 mm de profundidad no presentó significación estadística ($p=0,32$) para desarrollar enfermedad residual/recurrente.

Ilustración 49. Diagrama de barras agrupadas. Profundidad \leq o $>$ de 8mm. Enfermedad residual/recurrente



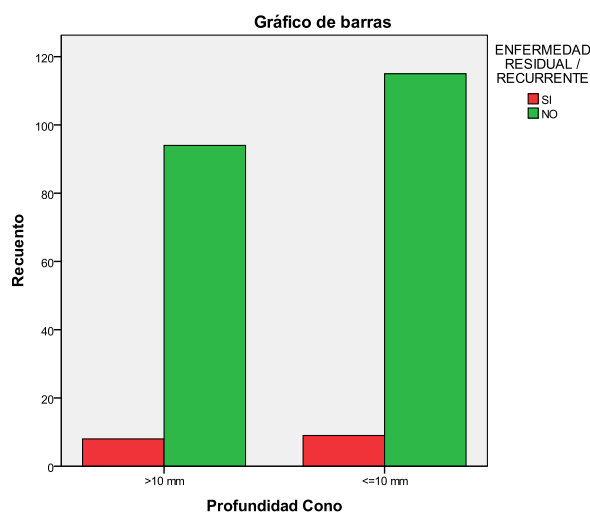
Las pacientes con piezas de conización con una profundidad mayor de 10 mm presentaron enfermedad residual/recurrente en un 7,8% y las pacientes con una

profundidad menor o igual 10mm presentaron enfermedad residual/recurrente en un 7,3%. Esta variable no presentó significación estadística.

Tabla 34. Tabla de contingencia. Profundidad del cono \leq o $>$ de 8mm. Enfermedad residual/recurrente

		ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
		SI	NO	
Profundidad >10 mm Cono	Recuento	8	94	102
	% dentro de Profundidad Cono	7,8%	92,2%	100,0%
\leq 10 mm	Recuento	9	115	124
	% dentro de Profundidad Cono	7,3%	92,7%	100,0%
Total	Recuento	17	209	226
	% dentro de Profundidad Cono	7,5%	92,5%	100,0%

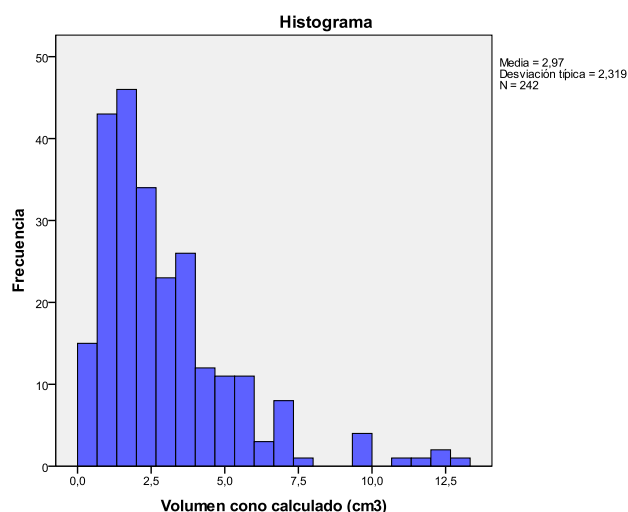
Ilustración 50. Diagrama de barras agrupadas. Profundidad \leq o $>$ de 10mm. Enfermedad residual/recurrente



9.-VOLUMEN DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN.

La media del volumen de la pieza de conización fue 2,97 cm³, siendo la mediana 2,09 cm³ y el Q1=1,3 cm³ y el Q3= 3,8 cm³. Se representa en el siguiente histograma:

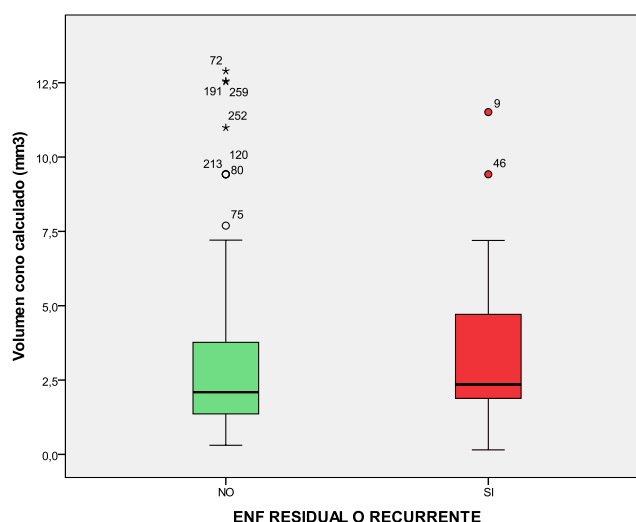
Ilustración 51. Histograma: Volumen de la pieza de conización.



En los casos sin enfermedad residual/recurrente la media fue $2,9 \text{ cm}^3$, rango de $0,3 - 12,9 \text{ cm}^3$, IC (95%): $2,6-3,2 \text{ cm}^3$, la mediana $2,09 \text{ cm}^3$ y la amplitud intercuartil (AIQ) = $4,60$ ($Q1=1,36$ y $Q3=3,17 \text{ cm}^3$) mientras que en los casos que presentaban enfermedad residual/recurrente, la media fue $3,66 \text{ cm}^3$, IC (95%) $2,0-5,29 \text{ cm}^3$, el rango $0,2-11,5 \text{ cm}^3$, la mediana $2,35 \text{ cm}^3$ y AIQ= $7,23$ ($Q1= 1,8 \text{ cm}^3$ y $Q3= 5,6 \text{ cm}^3$).

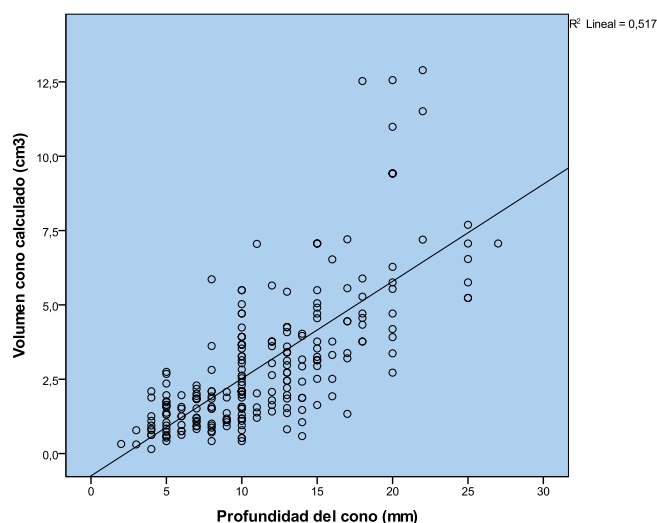
Estos valores no presentaron significación estadística para una $p=0,42$.

Ilustración 52. Diagrama de cajas: Volumen del cono. Enfermedad residual/recurrente



La relación entre la profundidad del cono y el volumen viene definida por la regresión lineal, que se expresa en un diagrama de puntos donde en el eje de la x se representa la profundidad del cono y el eje de la Y el volumen del cono. La correlación expresada con la Rho de Spearman tuvo un coeficiente de $0,719$ con una $p=0,001$, lo cual indicó una fuerte correlación entre el volumen y la profundidad del cono.

Ilustración 53. Diagrama de puntos o de dispersión. Volumen del cono /profundidad de la pieza de conización.

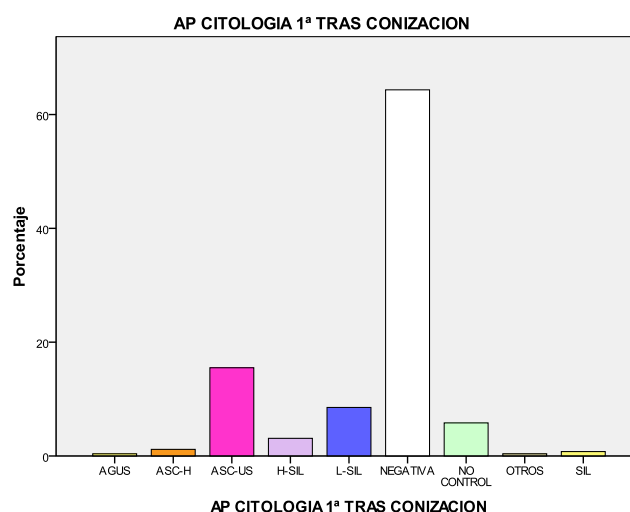


10.-CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN.

10.1.-PRIMERA CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN.

Con una N=243, la primera citología postconización tuvo como resultado más frecuente la citología negativa, en 166 casos (64,3%). En las citologías patológicas el resultado más frecuente fue ASC-US, 40 casos 15,5%, L-SIL 22 casos 8,5%, H-SIL 8 casos 3,1%, ASC-H 3 casos 1,2% y AGUS 1 caso 0,4%.

Ilustración 54. Diagrama de barras. 1ª citología postconización.



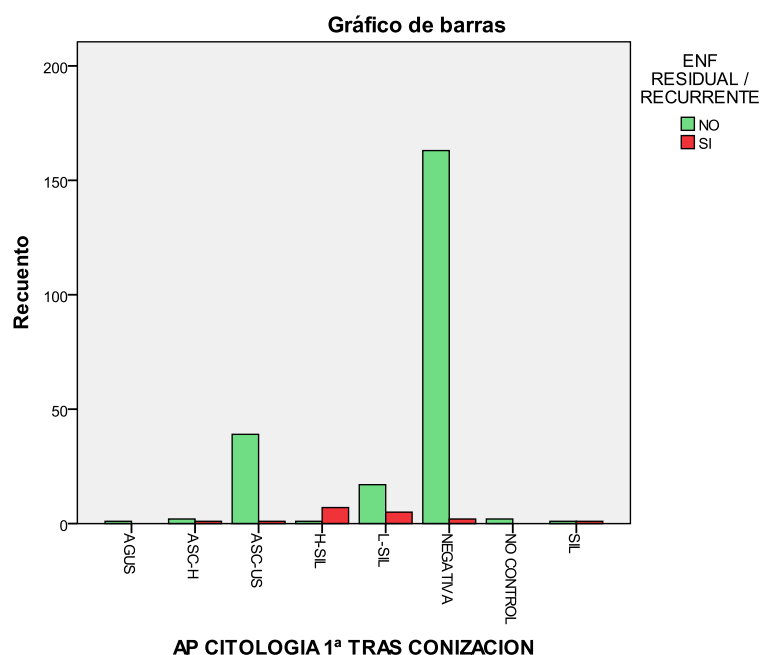
Al establecer el estudio comparativo, las pacientes sin enfermedad residual/recurrente presentaron el 98,8 % de las citologías con resultado negativo para lesión intraepitelial, sólo 1 caso con resultado de citología negativo presentó enfermedad recurrente/residual.

El resultado de ASC-US se determinó en el 97,5% de las pacientes sin enfermedad residual/recurrente frente al 2,5% en pacientes con enfermedad residual recurrente. L-SIL estuvo presente en el 77,3% frente al 22,7%, mientras que H-SIL fue hallado en el 12,5 % frente al 87,5% en las pacientes con enfermedad residual/recurrente.

Tabla 35. Tabla de contingencia. 1ª citología postconización. Enfermedad residual/recurrente

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			NO	SI	
AP CITOLOGIA 1ª TRAS CONIZACION	AGUS	Recuento %	1 100,0%	0 0,0%	1 100,0%
	ASC-H	Recuento %	2 66,7%	1 33,3%	3 100,0%
	ASC-US	Recuento %	39 97,5%	1 2,5%	40 100,0%
	H-SIL	Recuento %	1 12,5%	8 87,5%	9 100,0%
	L-SIL	Recuento %	17 77,3%	5 22,7%	22 100,0%
	NEGATIVA	Recuento %	163 99.39%	1 0,61%	164 100,0%
	NO CONTROL	Recuento %	2 100,0%	0 0,0%	2 100,0%
	SIL	Recuento %	1 50,0%	1 50,0%	2 100,0%
	Total	Recuento %	226 93,0%	17 7,0%	243 100,0%

Ilustración 55. Diagrama de barras. 1ª citología postconización. Enfermedad Residual-Recurrente



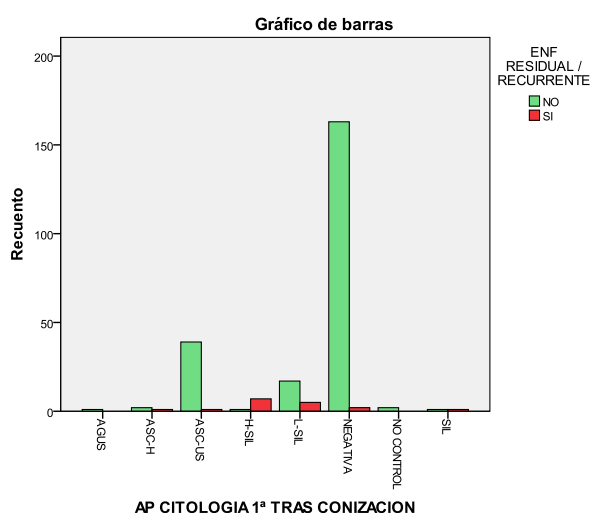
La agrupación de las distintas variables en una variable binaria definida como CITOLOGÍA DE ALTO Y BAJO GRADO y la observación de su distribución en pacientes sin o con enfermedad residual/recurrente, mostró que la citología de bajo grado se obtuvo en un 96,5 % de pacientes sin enfermedad residual/recurrente y en un 3,5% en las pacientes con enfermedad residual/recurrente. La citología de alto grado se halló en el 69,2 % de las pacientes con enfermedad residual/recurrente y en el 30,8% de las pacientes sin ella.

Tabla 36. Tabla de contingencia. Cito alto/bajo grado. Enfermedad residual/recurrente

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			SI	NO	
Citología 1ª postconización	Alto grado	Recuento %	9 69,2%	4 30,8%	13 100,0%
	Bajo grado	Recuento %	8 3,5%	221 96,5%	229 100,0%
Total		Recuento %	17 7,0%	225 93,0%	242 100,0%

Estos resultados presentaron significación estadística con una $p=0.001$, con una OR = 62,15 IC (95%) 15,74-245,30, y el RR=19,81 IC (95%) 9,1-42,81.

Ilustración 56. Diagrama de barras agrupada. 1ª citología postconización. Enfermedad residual/recurrente



10.2.-SEGUNDA CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN.

Contamos con N= 203, con 57 casos perdidos. Lo más frecuente, el 78,3%, fue hallar la segunda citología postconización con el resultado de Negativa para lesión intraepitelial, después AS-CUS en el 12,8% de los casos y en tercer lugar L-SIL, en un 5,9% de los casos.

Tabla 37. Tabla de frecuencias: Segunda citología Postconización

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	AGUS	1	,4	,5	,5
	ASC-US	26	10,0	12,8	13,3
	H-SIL	1	,4	,5	13,8
	L-SIL	12	4,6	5,9	19,7
	NEGATIVA	159	61,2	78,3	98,0
	NO CONTROL	4	1,5	2,0	100,0
	Total	203	78,1	100,0	
Perdidos	MISS	57	21,9		
Total		260	100,0		

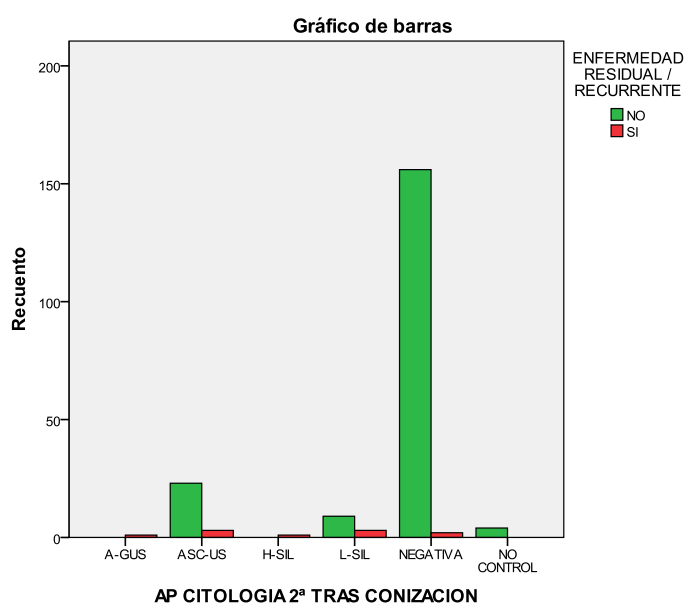
Tabla 38. Tabla de contingencia. 2ª Citología postconización. Enfermedad residual/recurrente

				ENFERMEDAD RESIDUAL O RECURRENTE		Total
				NO	SI	
CITOLOGIA 2ª TRAS CONIZACION	AGUS	Recuento %		0 0,0%	1 100,0%	1 100,0%
	ASC-US	Recuento %		23 88,5%	3 11,5%	26 100,0%
	H-SIL	Recuento %		0 0,0%	1 100,0%	1 100,0%
	L-SIL	Recuento %		9 75,0%	3 25,0%	12 100,0%
	NEGATIVA	Recuento %		156 98,7%	2 1,3%	158 100,0%
	NO CONTROL	Recuento %		4 100,0%	0 0,0%	4 100,0%
	Total	Recuento %		192 95,0%	10 5,0%	202 100,0%

Los casos donde la segunda citología postconización fue negativa, sólo presentaron enfermedad residual en el 1,3% de los casos, mientras que aquellos casos con resultado H-SIL o AGUS presentaron enfermedad residual/recurrente en el 100%. Las pacientes con L-SIL no presentaron enfermedad residual/recurrente en el 75% y sí la presentaron en el 25% de los casos.

Estos resultados tuvieron significación estadística con un $p=0,001$.

Ilustración 57. Diagrama de barras agrupadas. 2ª citología postconización. Enfermedad residual/recurrente.



Si agrupamos los distintos resultados de la citología en citología de alto y bajo grado, y comparamos los resultados en pacientes sin enfermedad residual/recurrente y las que sí, hallamos que el 100% de los casos con resultado de CITOLOGIA DE ALTO GRADO tenía enfermedad residual/recurrente mientras que sólo el 4,5% de las pacientes con CITOLOGIA DE BAJO GRADO tenía enfermedad residual /recurrente.

Estos resultados tuvieron significación estadística con una $p=0,05$, y el $RR=22,33$ IC (95%) 11,79-42,29.

Tabla 39. Tabla de contingencia. 2ª citología postconización. Enfermedad residual/recurrente

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			SI	NO	
Citología 2ª postconización	Alto grado	Recuento %	1 100,0%	0 0,0%	1 100,0%
	Bajo grado	Recuento %	9 4,5%	192 95,5%	201 100,0%
Total		Recuento %	10 5,0%	192 95,0%	202 100,0%

10.3.-TERCERA CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN.

Del total de casos, N= 135, el resultado más frecuente fue la citología negativa para lesión intraepitelial en un 83%, el segundo resultado más frecuente fue ASC-US en el 7,4% y L-SIL en un 4,4 %.

Tabla 40.Tabla de frecuencias. 3ª citología postconización.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	ASC-H	1	,4	,7	,7
	ASC-US	10	3,8	7,4	8,1
	H-SIL	2	,8	1,5	9,6
	L-SIL	6	2,3	4,4	14,1
	NEGATIVA	112	43,1	83,0	97,0
	NO CONTROL	4	1,5	3,0	100,0
	Total	135	51,9	100,0	
Perdidos	MISS	125	48,1		
Total		260	100,0		

Al realizar el estudio comparativo, N= 129 casos, el resultado más frecuente fue que la citología fuera negativa ,hecho que ocurrió en el 100 % de los casos en pacientes sin enfermedad residual/recurrente.El segundo resultado más frecuente fue que la citología fuera ASC-US,en un 80% en pacientes sin enfermedad residual/recurrente y un 20% en pacientes sin enfermedad residual/recurrente. Sólo hallamos 2 casos con resultado de HSIL que correspondieron a pacientes con enfermedad residual/recurrente.

Estos resultados obtuvieron significación estadística con una $p = 0,001$.

Tabla 41. Tabla de contingencia. 3ª citología postconización. Enfermedad residual/recurrente.

				ENFERMEDAD RESIDUAL O RECURRENTE		Total
				NO	SI	
CITOLOGIA 3ª TRAS ASC-H CONIZACION	Recuento %			1 100,0%	0 0,0%	1 100,0%
	ASC-US	Recuento %		8 80,0%	2 20,0%	10 100,0%
	H-SIL	Recuento %		0 ,0%	2 100,0%	2 100,0%
	L-SIL	Recuento %		4 66,7%	2 33,3%	6 100,0%
	NEGATIVA	Recuento %		112 100,0%	0 0,0%	112 100,0%
	NO CONTROL	Recuento %		4 100,0%	0 0,0%	4 100,0%
	Total	Recuento %		129 95,6%	6 4,4%	135 100,0%

Al agrupar los resultados en Citología de Alto y Bajo grado, el 97,8 % de los resultados correspondieron a citología de bajo grado y sólo el 2,2 % (3 casos) a citologías de alto grado.

Tabla 42. Tabla de frecuencias. 3ª citología alto/bajo grado

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Bajo grado	132	50,8	97,8	97,8
	Alto grado	3	1,2	2,2	100,0
	Total	135	51,9	100,0	
Perdidos	Perdidos	125	48,1		
Total		260	100,0		

Tabla 43. Tabla de contingencia. 3ª citología Alto /Bajo grado. Enfermedad residual/recurrente.

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			SI	NO	
Citología 3ª postconización	Alto grado	Recuento %	2 66,7%	1 33,3%	3 100,0%
	Bajo grado	Recuento %	4 3,0%	128 97,0%	132 100,0%
Total			6 4,4%	129 95,6%	135 100,0%

Estos resultados presentaron significación estadística $p=0,005$. El OR fue 64, IC (95%) de 4,7-860,44 y el RR= 22 IC (95%) 6,2-77,06.

11.-VPH POSTCONIZACIÓN.

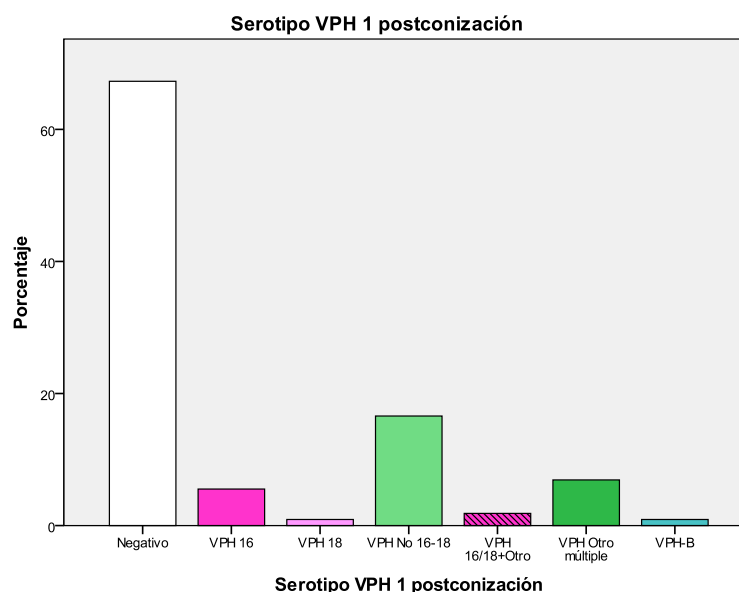
11.1.- PRIMERA DETERMINACIÓN DE VPH POSTCONIZACIÓN.

Con una N= 217, el resultado más frecuente durante el seguimiento fue hallar el VPH negativo, ocurrió en 146 casos, el 67,3 %.Hubo 71 casos con VPH positivo 32,71%. De los resultados con VPH positivo, la distribución en frecuencia de mayor a menor fue: infección por un genotipo distinto de VPH 16/18 en el 16,6% de los casos; coinfección por VPHs distintos de VPH 16/18 (6,9%); infección por el VPH 16 en el 5,5% (12 casos); coinfección con VPH 16 o 18 en el 1,8%, e infección por el VPH 18 (0,9%).

Tabla 44. Tabla de frecuencia.1 VPH postconización

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	146	56,2	67,3	67,3
	VPH 16	12	4,6	5,5	72,8
	VPH 18	2	,8	,9	73,7
	VPH No 16-18	36	13,8	16,6	90,3
	VPH 16/18+Otro	4	1,5	1,8	92,2
	VPH Otro múltiple	15	5,8	6,9	99,1
	VPH-B	2	,8	,9	100,0
	Total	217	83,5	100,0	
Perdidos	SYSMIS	43	16,5		
Total		260	100,0		

Ilustración 58. Diagrama de barras. 1 VPH postconización.



En el estudio comparativo, las pacientes con el VPH negativo no tuvieron enfermedad residual /recurrente en el 99,3% de los casos. Sólo hubo 1 caso con VPH negativo que presentó enfermedad residual. De las pacientes con VPH positivo, el 7,2% tuvo enfermedad residual/recurrente. En la infección por un único genotipo de VPH distinto del VPH 16 y 18, el 88,6% no tuvo enfermedad residual/recurrente y en el 11,4% sí. Las pacientes con coinfección por VPH no 16 ni 18, no tuvieron enfermedad residual/recurrente el 76,3% y sí el 26,4%. Las pacientes con VPH 16, no presentaron enfermedad residual/recurrente en el 41,7% y sí en el 58,3%, y en la coinfección con VPH 16 y 18, no presentaron enfermedad residual/recurrente en el 75% y sí en el 25%. En el caso de VPH 18 y VPH de bajo riesgo el 100% de las pacientes no tuvo enfermedad residual/recurrente.

Tabla 45. Tabla de contingencia. 1 VPH postconización. Enfermedad residual/recurrente.

				ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
				NO	SI	
Serotipo VPH 1 postconización	Negativo	Recuento		145	1	146
		% dentro de Serotipo VPH 1 postconización		99,3%	0,7%	100,0%
	VPH 16	Recuento		5	7	12
		% dentro de Serotipo VPH 1 postconización		41,7%	58,3%	100,0%
	VPH 18	Recuento		2	0	2
		% dentro de Serotipo VPH 1 postconización		100,0%	0,0%	100,0%
	VPH No 16-18	Recuento		31	4	35
		% dentro de Serotipo VPH 1 postconización		88,6%	11,4%	100,0%
	VPH 16/18+Otro	Recuento		3	1	4
		% dentro de Serotipo VPH 1 postconización		75,0%	25,0%	100,0%
Total	VPH múltiple	Recuento		11	4	15
		% dentro de Serotipo VPH 1 postconización		73,3%	26,7%	100,0%
	VPH-B	Recuento		2	0	2
		% dentro de Serotipo VPH 1 postconización		100,0%	0,0%	100,0%

De los VPH que no son 16 ni 18 la frecuencia de distribución en nuestra serie fue:

Tabla 46.Tabla de frecuencia, VPH-AR postconización: un genotipo, no VPH16/18.

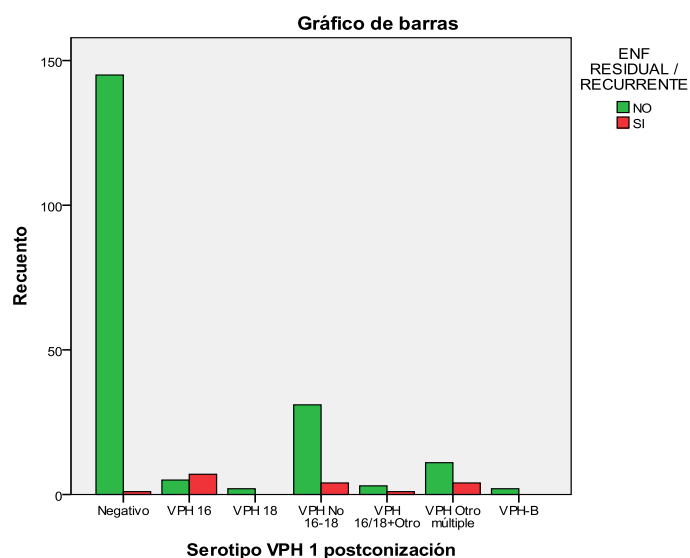
VPH (1genotipo)	N(CASOS)	%(Total VPH positivos)
31	2	11,7
33	1	5,88
35	7	5,88

Las pacientes con VPH-AR coinfección, no 16/18:

Tabla 47. Tabla de frecuencia. VPH Coinfección postconización, no 16/18.

VPH-AR	N(CASOS)	%
53,58	1	5,88
48,58	1	5,88
51,81	1	5,88
58,66	1	5,88

Ilustración 59.Diagrama de barras agrupadas. Primera determinación de VPH postconización. Enfermedad residual/recurrente

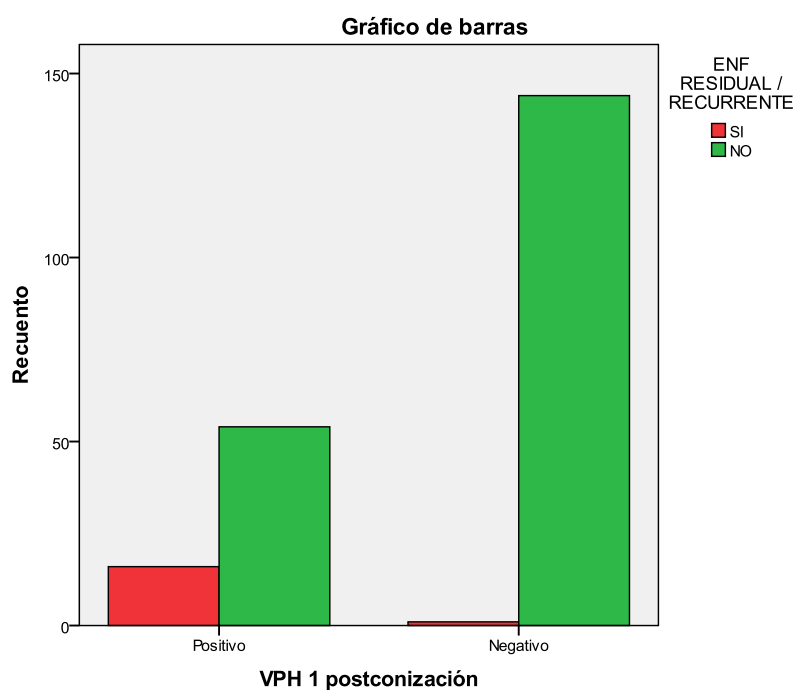


Al agrupar la variable de VPH postconización en una variable binaria VPH positivo y negativo, la descripción es que hubo un 67,3 % de pacientes con VPH negativo después de la conización y un 32,7% de pacientes con VPH positivo.

En el estudio comparativo en las pacientes con VPH negativo, el 99,3% no presentó enfermedad residual /recurrente, y un 0,7% sí la presentó. Las pacientes con VPH positivo, presentaron en un 22,9 % enfermedad residual/recurrente y no la presentaron en un 77,1%.

Estos resultados tuvieron significación estadística con $p=0,001$. OR = 42,6 (IC 95% 5,5- 329,5). Y RR=33 IC (95%) 4,4 -244,90.

Ilustración 60. Diagrama de barras agrupadas. 1 VPH postconización positivo/negativo Enfermedad residual/recurrente



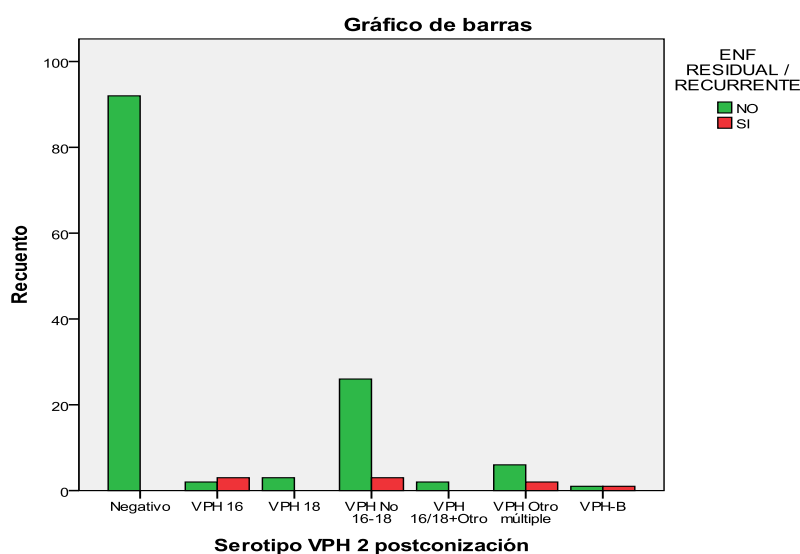
11.2.- SEGUNDA DETERMINACIÓN DE VPH POSTCONIZACIÓN.

Con una N= 141. el resultado más frecuente fue hallar el VPH negativo, hecho que ocurrió en el 65,2% de los casos. Entre los casos con VPH positivo lo más frecuente fue la presencia de infección por un único genotipo ni 16 ni 18 en el 20,6% de los casos, seguido de la coinfección por varios VPH ni 16 ni 18 en el 5,7%. El VPH 16 sólo estuvo presente en el 3,5% de los casos.

Tabla 48.Tabla de frecuencias. Segunda determinación de VPH

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	92	35,4	65,2	65,2
	VPH 16	5	1,9	3,5	68,8
	VPH 18	3	1,2	2,1	70,9
	VPH No 16-18	29	11,2	20,6	91,5
	VPH 16/18+Otro	2	,8	1,4	92,9
	VPH Otro múltiple	8	3,1	5,7	98,6
	VPH-BR	2	,8	1,4	100,0
	Total	141	54,2	100,0	
Perdidos	SYSMIS	119	45,8		
Total		260	100,0		

Ilustración 61.Diagrama de barras agrupadas. Segunda determinación de VPH postconización. Enfermedad residual/recurrente.



En el estudio comparativo, las pacientes con VPH negativo no presentaron enfermedad residual/recurrente en ningún caso. Las pacientes con VPH positivo, con

infección por un único genotipo ni 16 ni 18 no presentaron enfermedad residual/recurrente en el 89,7% de los casos y sí la presentaron en el 10,3%. Las pacientes con coinfección por VPH ni 16 ni 18, en el 75% no asociaron enfermedad residual/recurrente y en el 25% sí la asociaron. Los casos con VPH 16 no asociaron enfermedad residual en el 40% y sí en el 60%.

La variable segunda citología después de la conización sí presentó significación estadística, $p=0,001$.

Si agrupamos la variable segunda determinación de VPH postconización, en una variable binaria VPH positivo y negativo, el 65,2% presentó VPH negativo y el 34,8% VPH positivo. Las pacientes con VPH negativo no asociaron en ningún caso enfermedad residual recurrente y las pacientes con VPH positivo sí lo asociaron en un 18,4% y no en un 81,6%.

La segunda determinación de VPH postconización como variable binaria, citología de alto grado y bajo grado sí presentó significación estadística con una $p=0,001$

Tabla 49. Tabla de contingencia. Segunda determinación de VPH positivo/negativo postconización.

			ENF RESIDUAL O RECURRENTE		Total
			SI	NO	
Segunda determinación VPH postconización	Positivo	Recuento	9	40	49
		% dentro de VPH 2 postconización	18,4%	81,6%	100,0%
	Negativo	Recuento	0	92	92
		% dentro de VPH 2 postconización	0,0%	100,0%	100,0%
Total		Recuento	9	132	141
		% dentro de VPH 2 postconización	6,4%	93,6%	100,0%

11.3.- TERCERA DETERMINACIÓN DE VPH POSTCONIZACIÓN.

Con una N= 71. El resultado más frecuente fue VPH negativo en el 78,9%, VPH no 16 ni 18 en el 12,7%, coinfección sin VPH 16 ni 18 en el 4,2% de los casos y VPH 16 en el 2,8% de los casos.

Tabla 50.Tabla de frecuencias. Tercera determinación VPH postconización.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	56	21,5	78,9	78,9
	VPH 16	2	,8	2,8	81,7
	VPH No 16-18	9	3,5	12,7	94,4
	VPH Otro múltiple	3	1,2	4,2	98,6
	VPH-B	1	,4	1,4	100,0
	Total	71	27,3	100,0	
Perdidos	59	1	,4		
	SYSMIS	185	71,2		
	Sistema	3	1,2		
	Total	189	72,7		
Total		260	100,0		

En el estudio comparativo, las pacientes con VPH negativo no presentaron enfermedad residual/recurrente en el 98,2 % y sí en el 1,8%. Las pacientes con VPH positivo, con infección por un único genotipo no 16 ni 18 no presentaron enfermedad residual/recurrente en el 88,9% de los casos y sí en el 11,1%. Con coinfección sin 16 ni 18, en el 100% no asociaron enfermedad residual/recurrente. Con VPH 16 no asociaron enfermedad residual en el 50% y sí en el 50%.

La tercera determinación de VPH postconización mostró significación estadística con $p=0,049$.

Al agrupar la variable de VPH postconización en una variable binaria VPH positivo y negativo, el 75,7% de las pacientes presentaron VPH negativo y el 24,3% de las pacientes VPH positivo. Las pacientes con VPH negativo no asociaron en enfermedad residual/ recurrente en el 98,2% y sí en el 1,8% y las pacientes con VPH positivo sí lo asociaron en un 11,1% y no en un 88,9%.

Estos resultados no alcanzan significación estadística con una $p=0,145$.

12.-ANÁLISIS CON REGRESIÓN LOGÍSTICA UNIVARIANTE/MULTIVARIANTE.

Tabla 51.REGRESIÓN LOGÍSTICA UNIVARIANTE. Tabla de Variables /Enfermedad residual/recurrente

VARIABLE	P	OR	IC 95% OR
Edad > 35 años	0,017	3,6	1,2-10.84
Citología preconización	0,48	1,57	0,43-5,67
VPH 16/18 preconización	0,26	1,92	0,6-6,18
Márgenes afectos	0,001	6,03	2,1-16.89
Profundidad ≤8mm	0,27	0,57	0,20-1,57
Volumen del cono	0,21	1,19	0,93-1,33
1ª citología postconización	0,0001	62,4	15,82-246,4
1ºVPH postconización	0,0001	42,96	5,66-331,83

Tabla 52.REGRESIÓN LOGÍSTICA MULTIVARIANTE 1. Tabla de Variables /Enfermedad residual/recurrente

Variables en la ecuación	Sig.	OR	I.C. 95% OR	
			Inferior	Superior
Paso 1ª Edad>35	,051	3,621	,995	13,177
MARGENES AFECTOS	,031	4,420	1,150	16,991
Profundidad ≤ 8	,319	,524	,147	1,866
HPV1PostConBi	,000	50,322	6,161	411,007
Constante	,000	,003		

Al realizar el análisis multivariante con las variables de nuestra hipótesis principal: Edad mayor de 35 años, márgenes afectos, Profundidad menor o igual de 8mm y VPH positivo postconización todas las variables, excepto la profundidad de la conización, son estadísticamente significativas.

Al retirar la variable profundidad, la edad mayor de 35 años, deja de ser significativa como se puede observar en la siguiente tabla.

Tabla 53.LOGÍSTICA MULTIVARIANTE 2. Tabla de Variables /Enfermedad residual/recurrente.

Variables en la ecuación		Sig.	OR	I.C. 95% OR	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	Edad>35	,073	3,166	,899	11,149
	MARGENES_AFECTOS	,015	5,158	1,379	19,302
	HPV1PostConBi	,000	53,054	6,489	433,754
	Constante	,000	,002		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: Edad35, MARGENES_AFECTOS, HPV1PostConBi.

Al retirar la variable edad mayor de 35 años, tanto los márgenes afectos como la presencia del VPH positivo postconización presentaron significación estadística. Los márgenes afectos con una $P=0,001$ y una $OR= 7,5$ IC (95%) 1,3-19,3, y el VPH positivo después de la conización para una $P=0.0001$, una $OR= 49,38$ IC (95%) 6,4-433.75.

Tabla 54.REGRESIÓN LOGÍSTICA MULTIVARIANTE 3. Tabla de Variables /Enfermedad residual/recurrente.

Variables en la ecuación		Sig.	OR	I.C. 95% OR	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	MARGENES_AFECTOS	,001	7,590	2,174	26,506
	HPV1PostConBi	,000	49,398	6,113	399,179
	Constante	,000	,004		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: MARGENES_AFECTOS, HPV1PostConBi.

V-DISCUSIÓN

- 1.-Edad
- 2.-VPH antes de la conización
- 3.-Citología antes de la conización.
- 4.-Biopsia antes de la conización
- 5.-Histología de la pieza de conización.
- 6.-Márgenes afectos.
- 7.-Legrado postconización.
- 8.-Profundidad de la pieza de conización
- 9.-Volumen de la pieza de conización
- 10.-Citología después de la conización.
- 11.-VPH después de la conización.
- 12.-Casos de enfermedad residual y recurrente.

1.-EDAD

En nuestra muestra la media de edad fue de 35,2 años, la mediana 33 y el rango intercuartílico fue de 13 (28-41), con lo cual el 50% central de las pacientes se encontraban entre 28 y 41 años. Nuestra población coincide con la mayor parte de estudios publicados, con medias que oscilan entre 27 y 47 años ^[140]. Ejemplos de esto son trabajos como los de Leguevaque y cols ^[114], media 38 años; Lubrano y cols ^[112], con edad media de $37,8 \pm 8.9$ (rango 18-73); Söderlund-Strand y cols ^[141] con edad media de 34 años y mediana de 33,5 (rango 21-55); Chen y cols ^[111], que realizaron un estudio en el que se analizaron 1113 pacientes conizadas con edad media de $38,1 \pm 7,2$; Costa y cols ^[142], con media de 35 ± 8.8 (rango 18-75); Serati ^[113], con media de $37,5 \pm 10,3$ años y Tropé y cols ^[143] con media de 37,6, mediana de 36 años y con un rango de 20-75 años. Por tanto, nuestro estudio está realizado con un grupo de mujeres equiparable a los principales estudios publicados.

La mediana de las pacientes que en este trabajo de investigación no presentaron enfermedad residual/recurrente fue de 33 años y la mediana de los pacientes con enfermedad residual/recurrente fue de 40 años. Esto resultó estadísticamente significativo ($p=0,001$). La diferencia de medias fue 5,25 con un IC del 95% de 0,4-10 y esta variable presentó también significación estadística ($p=0,001$). La explicación básica a todo esto está relacionada con la propia evolución natural de la infección por el VPH considerada causa necesaria para el desarrollo de una lesión intraepitelial de cérvix uterino. En población joven, aunque la prevalencia de la infección es muy alta, también lo es la capacidad de aclaramiento por el sistema inmune. Sin embargo en el rango de 30-35 años, esta capacidad de aclaramiento disminuye y la infección por el VPH persiste en el epitelio cervical desarrollando su capacidad oncogénica y aumentando la prevalencia de CIN2 + que requiere tratamiento quirúrgico. En el estudio de Alonso y cols ^[115], donde el porcentaje de enfermedad residual/recurrente fue del 17,7%, también se diferencia la edad media por grupos de enfermedad. En el grupo sin enfermedad/recurrente residual la edad media fue de $38,2 \pm 9,5$ mientras que el grupo con enfermedad residual/recurrente fue de $40,3 \pm 10,8$. Estos datos son similares a los nuestros, aunque con una diferencia menos acusada.

El 86 % de las pacientes tenía entre 21 y 50 años. Tan sólo se realizaron 26 conizaciones con asa de diatermia en pacientes mayores de 50 años y 11 conizaciones en mujeres menores de 21 años (4,2 %). Ninguna de las pacientes menores de 21 años presentó enfermedad residual/recurrente. De estas 11 pacientes, una paciente tuvo como diagnóstico definitivo de la conización L-SIL y otras 4 pacientes, no presentaron lesión en la pieza definitiva de la conización. El resto, aunque presentaron como diagnóstico de la conización CIN 2 y en un caso CIN 3, no desarrollaron enfermedad residual/recurrente, y a pesar de que en algún caso el VPH fue positivo a los 6 meses de la conización, en ningún caso fue el mismo genotipo de VPH que se diagnóstico previo a la cirugía.

La actitud terapéutica en pacientes tan jóvenes que presentan lesiones intraepiteliales de alto grado es controvertida, pero dada la alta prevalencia de infección transitoria en los primeros años de la vida sexual, parece una actitud

razonable, realizar únicamente seguimiento, sin proceder a una conización. Hay que tener siempre en cuenta las características de la lesión en la colposcopia. De esta forma evitaremos el sobretratamiento, teniendo en cuenta que la remisión de la CIN 1 y 2 es prácticamente constante a estas edades ^[10]. La exéresis quirúrgica en una adolescente nulípara puede ser perjudicial para la fertilidad y originar incompetencia cervical por lo que se debe evitar en la medida de lo posible ^[63]. La morbilidad de dichos tratamientos sobre la fertilidad o futuras gestaciones debe tenerse en cuenta en las mujeres jóvenes ^[106]. Nuestros resultados apoyan esta opción de tratamiento más conservador.

Las pacientes mayores de 50 años, 20 casos en nuestra serie (8,8%), presentaron sin embargo la mayor tasa de enfermedad residual/recurrente, un 20% frente al 6% en pacientes entre 21 y 50 años. Aunque la variable de la edad ordinal no fue significativa, estos datos sí orientan a que la persistencia de la infección viral es mayor en pacientes mayores de 50 años y que debemos de ser más exhaustivos en la actitud terapéutica y en el seguimiento.

Así, en estas pacientes de mayores de 50 años, si hay exéresis incompleta de la CIN en el margen endocervical se tendría que adoptar una actitud menos conservadora como demuestra el trabajo de Flannely y colaboradores ^[88]. En este trabajo se estudió a 3426 mujeres conizadas mediante asa de diatermia y se les dividió en 3 grupos de análisis en función de la edad y los márgenes afectos valorando la presencia de CIN a los 5 años de la cirugía:

- Mujeres < de 50 años y márgenes libres: 92% sin CIN a los 5 años.
- Mujeres >de 50 años y márgenes afectos: 58% sin CIN a los 5 años.
- Mujeres <de 50años y márgenes afectos
ó mujeres >de 50 años márgenes libres: 86% sin CIN a los 5 años.

Se confirmó que la edad mayor de 50 años y los márgenes afectos son factores de riesgo para la recurrencia de la CIN. De esta manera, en pacientes mayores de 50 años con resecciones incompletas está justificado completar la exéresis para intentar obtener márgenes negativos ^{Pautas europeas para el tratamiento de la neoplasia cervical.}

En lo referente al análisis por edad binaria mayor o menor de 35 años, nuestra muestra presentó un porcentaje mayor de pacientes, el 58% con edad menor o igual de 35 años. Cuando realizamos el análisis comparativo, este grupo de menores de 35 años presentó un porcentaje de enfermedad residual/recurrente del 3,5% a diferencia del grupo de pacientes conizadas mayor de 35 años donde el porcentaje fue del 12%. Este dato presentó significación estadística, $p=0,001$, $RR=3,4$ (IC 95% de 1.2 a 9.3), $OR= 3,73$ (IC 95% de 1,2 a 10,97). El tener más de 35 años supone tener 3,7 más veces riesgo de tener enfermedad residual que con las pacientes con 35 años o menos de 35 años.

Cuando realizamos el análisis con regresión logística binaria univariante, la edad $>$ de 35 años presenta significación estadística, para una $p=0,017$, el $OR=3$, (IC 95% 1,2-10,8), sin embargo en la regresión logística multivariante (edad, profundidad menor o igual a 8mm, márgenes afectos y test de VPH postconización) la edad deja de tener significación estadística, con $p=0,051$. Esto también ocurre en el estudio de Alonso y cols ^{Alonso I}, mientras que en otros la edad sí se asocia como un factor de riesgo para enfermedad residual/recurrente ^[119, 144].

Si tenemos en cuenta las estadísticas de nacimientos en la población española en los últimos años (Tabla 1, anexo), el grupo de edad de mujeres de 30-34 años ha ido disminuyendo la tasa de partos, mientras que en el grupo de 35-39 años y sobre todo el de 40-44 años, (de 18.450 partos en 2007 a 26.535 partos en 2012) ha ido aumentando progresivamente. Es decir cada vez la mujer tiene gestaciones y partos en edades más avanzadas y a mayor edad, puede ser más probable la existencia de una lesión intraepitelial de alto grado que requiera una conización. Conociendo el aumento de la morbilidad obstétrica de dichos tratamientos sobre la fertilidad o futuras gestaciones ^[99-103] parece importante conocer la profundidad de la pieza de conización y el volumen necesario para realizar una correcta cirugía.

2.-CITOLOGÍA ANTES DE LA CONIZACIÓN.

En el estudio previo a la conización la lesión citológica más frecuente fue el H-SIL, con un 63,8% del total de casos, siendo L-SIL el segundo hallazgo más frecuente con el 21,5% de los casos. Todas las pacientes con citología antes de la conización con resultado de ASC-US estarían libre de enfermedad al igual que con citología de resultado ASC-H y SIL. En el caso de L-SIL hay 49 casos (94,2%) sin enfermedad residual/recurrente y un 5,8% con enfermedad residual/ recurrente. Con el resultado de H-SIL hay un 91% sin enfermedad residual/recurrente y un 9% con enfermedad residual o recurrente. Esta diferencia de porcentajes no presentó significación estadística, $p=0,574$.

Varias revisiones bibliográficas han valorado la exactitud del cribado con citología convencional comparándola con el diagnóstico histológico. En una revisión de 62 trabajos previos a 1995 ^[145], los rangos de sensibilidad y especificidad fueron muy amplios del orden del 11-99% y del 14-97 % respectivamente, lo que muestra una relación inversa entre ambas. Otra revisión de 94 trabajos con citología convencional ^[146] confirma la gran variación individual de sensibilidad y especificidad. Entre 12 estudios seleccionados por su mejor metodología, el rango de sensibilidad fue del 30-87% y el de especificidad del 86-100%. Las notables diferencias en la sensibilidad de la citología entre las distintas publicaciones pueden explicarse por la escasa reproducibilidad de la citología o diferentes sesgos, en el proceso de revisión, en la selección de los casos, en el umbral de valoración o en el estándar de referencia utilizado.

A pesar de todo desde la experiencia pionera de Boyes et al ^[147] iniciada en Columbia Británica en 1960, la citología ha demostrado repetidamente que es capaz de reducir la incidencia y la mortalidad del cáncer cervical en los países en que se ha cribado a la población de forma organizada extensa y continuada. En España, en casi todas las comunidades autónomas, el cribado sigue siendo oportunista. Deberíamos trabajar para pasar a un cribado único y poblacional dado el aumento en los últimos años de los casos de carcinoma de cérvix ^[21].

3.-VPH ANTES DE LA CONIZACIÓN.

Es conocido que la presencia del VPH es el factor de riesgo más importante para el desarrollo de la lesión intraepitelial cervical. La persistencia viral crónica es definitiva para la progresión hacia una lesión preinvasiva. El genotipo de VPH y su capacidad de progresión desde una lesión de bajo grado a una lesión de alto grado han sido estudiadas por diversos trabajos. Khan y colaboradores ^[37] hallaron que en mujeres infectadas por un VPH-AR con citología inicial negativa, el 10% de las mujeres infectadas por VPH 16 o 18 presentaron CIN3 a los 3 años y el 18-20% a los 10 años. Sin embargo la progresión a CIN 3 del resto de tipos virales fue del 1-2%. Por lo tanto son los genotipos 16 y 18 los que presentan mayor riesgo.

En nuestra serie se identificó el genotipo de VPH antes de la conización en 239 mujeres, un 91,9%, y en 21 casos no fue solicitado el estudio. El genotipo 16 fue el más frecuente de todos, detectándose en el 37,2% de los casos. El VPH 18 sólo estuvo presente en el 3,3% de los casos. Sin embargo, la coinfección por VPH 16 o 18 con cualquier otro tipo de VPH de alto riesgo fue un 20,9% del total, la situación que más ocurrió después de la infección aislada por el VPH 16.

En la literatura general ^[21], tanto en el mundo como en Europa y España el genotipo más frecuente en las pacientes con HSIL es el VPH 16, coincidiendo esto con nuestra serie. Después del VPH 16, en España los más frecuentes son: 31, 33, 52, 18, 58, 51, 35, 45. En nuestra serie se cumple la misma distribución cuando analizamos la infección por un solo genotipo aunque cambia que el segundo más frecuente es el 33 y después el 31. La segunda situación más frecuente es la presencia de coinfección por varios genotipos distintos del VPH 16 y 18. Al realizar el estudio comparativo de las pacientes que presentan enfermedad residual/recurrente frente a las que no la presentan y el tipo de VPH, no encontramos diferencias significativas.

En el trabajo de Houfflin-Devarge ^[148], el porcentaje de pacientes con VPH positivo antes de la conización fue el 94,1% (n= 193). Con un porcentaje de enfermedad residual/recurrente del 13,2% no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los 2 grupos: VPH positivo o negativo, aunque todos los casos de enfermedad recurrente ocurrieron cuando el VPH era positivo. Este

porcentaje del 94 % es acorde con la literatura^[116, 149-155]. En este trabajo usaron el método Hybrid capture II test (HC2) para la determinación del VPH. Comparado con otros métodos esta técnica es más sensible para detectar VPH-AR pero no especifica el genotipo viral de VPH como por ejemplo la PCR^[156, 157].

En el estudio de varias cohortes publicado por Kocken y cols^[158] se investigó la prevalencia del VPH antes de la conización y después de la conización y se realizó un seguimiento mínimo de las pacientes durante 5 años. El método de detección del VPH usado fue VPH primers GP5+/6+ PCR. El 93% de las pacientes tuvieron el VPH positivo. El más prevalente fue el VPH 16 (64%), seguido del VPH 31 (9%), el VPH 33 (11%) y el VPH 18 (9%). De las 399 mujeres positivas para el VPH, el 85% tuvo infección por un sólo genotipo, un 14% una coinfección doble y un 2% una coinfección triple. Las mujeres con VPH negativo tuvieron un riesgo similar de CIN2 + después del tratamiento a aquellas con el VPH positivo pero ninguna de las pacientes con VPH negativo desarrolló un CIN 3 + en el seguimiento

En el trabajo de Leguevaque y cols.^[114] se analizaron 352 pacientes con asa de diatermia estudiando los factores de persistencia de enfermedad recurrente. El test de VPH fue hecho con PCR-EIA usando primers GP5/6. El VPH antes de la cirugía fue positivo en el 85 % de las pacientes. Y en el análisis de regresión logística multivariante el VPH antes de la conización fue significativo como factor predictivo de enfermedad recurrente $p=0,01$, OR 8,3 IC (95%) 1,59-43,5. La sensibilidad del VPH positivo antes de la conización fue del 97,7% y la especificidad del 16%, el VPP del 14% y el VPN del 98,1%.

En este trabajo de investigación se agruparon los distintos tipos en una variable binaria: tener VPH 16/18 y no tenerlo, con el objetivo de aumentar nuestra potencia estadística. Al analizar su distribución en las pacientes con enfermedad residual/recurrente se halló que en los 17 casos estudiados con enfermedad residual/recurrente, el 57,3% (12 casos) presentaron VPH 16/18 y el 34,3% (5 casos) no la presentaron. Es decir fue casi 3 veces más frecuente el VPH 16/18 que otros genotipos en las pacientes que tuvieron enfermedad residual/recurrente que en las que no la tuvieron. Pero al analizar la presencia de VPH 16/18 en el estudio comparativo no se encontró significación estadística. Ello puede ser debido a una N de

la muestra no lo suficientemente grande, ya que de 260 conizaciones realizadas, sólo en 221 casos se analizó el VPH antes de la conización y con enfermedad residual/recurrente sólo disponemos de 17 casos (7%).

En los 4 casos de carcinoma epidermoide se detectó el VPH 16 en 2 casos ,el VPH 18 en el tercer caso y en el cuarto caso no conocíamos el genotipo de VPH. El único caso de adenocarcinoma estaba asociado al VPH 16. En los 5 casos de carcinoma epidermoide in situ, 2 fueron VPH 16, uno VPH31, otro VPH 33,58 y el último desconocíamos el VPH. En los 5 casos de adenocarcinoma in situ, 3 tenían VPH 16, uno VPH 18 y otro VPH 45.

En nuestra serie al estudiar la infección por un único genotipo versus la coinfección, en general hallamos una frecuencia mayor de infección por un único genotipo tanto en las pacientes con enfermedad residual/recurrente como en las que no. En las 17 pacientes con enfermedad residual/recurrente, 11 casos (64%) tuvieron infección por un único genotipo y 5 casos (29,4%) presentaorn coinfección por varios VPH. Más del doble presentaron un único genotipo que solía ser el VPH 16, pero esta variable no presentó significación estadística, lo cual también puede ser debido al pequeño tamaño muestral.

Se ha hablado mucho de la importancia de la infección por un único VPH comparada con la coinfección por varios VPH. Concretamente se ha discutido qué importancia tiene en la capacidad de progresión de la lesión intraepitelial de alto grado y en la presencia de enfermedad residual/recurrente. Está demostrado que el VPH 16 y el VPH 18 tienen una mayor capacidad de progresión de L-SIL a H-SIL que el resto y parece ser que no aumenta porque asocie otros genotipos, o que sea mayor la progresión cuando existe coinfección sin el VPH 16/18.Es muy relevante el estudio epidemiológico de Chaturvedi y cols ^[159]. donde se realizó un ensayo en 5871 mujeres de entre 18 -25 años para analizar la presencia del genotipo de VPH, la presencia de infección por un único genotipo o varios y la presencia de lesión intraepitelial de alto grado. La técnica de detección del VPH fue mediante PCR. La prevalencia de la infección por el VPH fue del 50%, los tipos oncogénicos en el 33,8% e infecciones múltiples en el 18%. El número de VPH en una mujer que tenía coinfección varió entre 2 y 8 genotipos. Una alta proporción de cada tipo de VPH estuvo implicado en

infecciones múltiples que iban desde el 48% del VPH 54 al 86% del VPH 34. Cuando se consideraron todas las posibles combinaciones de pares a través de 25 genotipos de VPH hubo 6 VPH significativamente más propensos a estar involucrados es una coinfección: VPH 11, 31, 33, 34, 42, 45. Las razones de estas observaciones no son claras. Mientras la reactividad cruzada de la PCR podría explicar algunos de estos resultados (31-33) para otros no hubo diferencias basadas en las relaciones filogenéticas. Los resultados indican que los genotipos implicados en la coinfección ocurren al azar.

Siguiendo con el estudio de Chaturvedi, para los tipos VPH 16 y 18, la coinfección con otros tipos de VPH adicionales no se asoció con el riesgo de CIN2+. Sin embargo la coinfección con múltiples tipos oncogénicos: 16,31, 33, 35, 52 y 58 sí asoció un incremento marginal de CIN 2 +. No obstante, esta asociación fue impulsada en gran parte por la presencia del VPH 16. Pero no hubo evidencia significativa para la interacción tipo a tipo en el aumento de CIN2+. Sus resultados sugirieron que cada genotipo de VPH sigue un camino independiente en la capacidad de progresión de la enfermedad.

En un estudio español de García- Espinosa y cols ^[160] realizado sobre 533 muestras con neoplasia cervical intraepitelial, analizado mediante estudio del VPH con PCR, se encontró una distribución del VPH 16 en el 26%, del VPH 31 en el 10%, del VPH 58 del 8% y del VPH 18 en el 5%. Hubo presencia de coinfección en el 30% de los casos con CIN 1 y en el 18% de los casos con CIN2. Sin embargo en nuestro estudio la presencia de un único genotipo fue el hallazgo más frecuente tanto en las piezas de conización con el resultado histológico de CIN2-3 como en las de CIN1. En las de CIN 2-3, la infección por un único genotipo ocurrió en el 67% y la coinfección en el 22 %, mientras que en las piezas de conización con el diagnóstico de CIN 1 (11 casos), la infección por un único genotipo se halló en el 54% y la coinfección en el 45%.

En algunos estudios se ha valorado si la carga viral del VPH antes de la conización está relacionada con la persistencia del VPH después de la conización. Se ha relacionado la carga viral del VPH positivo con la extensión y severidad de la lesión ^[161-163]. En el estudio de Park J y cols ^[123] el análisis multivariante demostró que el VPH-AR con una carga viral ≥ 100 URL/CP era un factor de riesgo de persistencia /recurrencia

después de la conización comparado con pacientes con < de 100 URL. El estudio de Alonso y cols ^[115] determina que la carga viral preconización determinada usando HCII se asocia con un mayor riesgo de enfermedad residual/recurrente aunque el punto de corte está en 1000 URL/PC. Este valor no puede ser estudiado en nuestro trabajo porque la técnica de PCR usada no permite cuantificar la carga viral.

4.-DIAGNOSTICO HISTOLÓGICO DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN

La lesión histológica más frecuente en la pieza de conización fue H-SIL en el 76,5% de los casos distribuyéndose en CIN 2 (44,6%) y en CIN 3 en (31,9%). En el 13,1 % del total, no se halló lesión en la pieza de conización, y en el 4,2%, el resultado fue de L-SIL. Hubo 6 casos de AIS, 4 casos de carcinoma in situ, 5 casos de carcinoma epidermoide, y 1 de adenocarcinoma.

Como acaba de describirse hay un 13,1% de la muestra, (34 casos) con resultado definitivo de No lesión. El estudio descriptivo de los mismos mostró 9 casos en pacientes menores de 25 años, 4 casos con VPH negativo, 10 casos con citología preconización de L-SIL, 4 casos con SIL no categorizado, 2 casos con ASC-US y 1 caso con ASC-H. Además, 18 de los casos tuvieron menos de 8mm de profundidad en la pieza de conización. Este subgrupo no mostró diferencias significativas con el resto de la muestra en cuanto a la posibilidad de padecer enfermedad residual/recurrente. De las 17 pacientes de la muestra con enfermedad residual/recurrente, sólo 2 casos no presentaron lesión en la pieza de conización. Estos dos casos corresponden a dos pacientes de 24 años con conizaciones de 8 y 7 mm de profundidad y diagnóstico previo de CIN3 y CIN2 respectivamente. Ambas pacientes durante el seguimiento modifican la citología a lesiones de bajo grado (LSIL y ASCUS) y cambian los tipos virales, suponiéndose que en las mismas que pudiera existir reinfección.

Diversos estudios han demostrado que incluso con el uso de criterios estrictos de selección, aproximadamente del 10-20 % de los pacientes con histología confirmada de CIN2-3 en la biopsia dirigida por colposcopia antes de la cirugía, no presentan CIN residual en la histología definitiva de la pieza de conización ^[164]. En el estudio de Livasy ^[164] el porcentaje de conos negativos fue del 13,8%, en las series de Ryu ^[165] 17,7%, en

el de Diakomanolis y cols ^[166] 16,5% y en el de Rodríguez- Manfredi A ^[121] un 16%. Estas cifras son totalmente equiparables a las encontradas en este trabajo de investigación.

Han sido pocos los estudios que han evaluado el significado clínico de la ausencia de CIN en la pieza de conización de pacientes con CIN en la biopsia previa y han intentado analizar los factores que pueden ayudar a predecir un resultado negativo antes de la cirugía ^[167]. Se han propuesto distintas razones se han propuesto para su explicación. La primera fue la posibilidad de realizar excisiones pequeñas de lesiones cervicales por fuera de la zona de biopsia dirigida por colposcopia o de la toma endocervical ^[165]. La hipótesis era acorde con el hallazgo de una mayor cantidad de conos negativos en pacientes con lesiones que ocupaban menos de un cuadrante de la superficie del cérvix en la visión colposcópica. Posteriormente se pensó en una regresión espontánea de una lesión residual después de una biopsia dirigida por colposcopia. Se ha estimado que la regresión espontánea de la CIN 2-3 después de una biopsia confirmada puede ocurrir en el 20% de los casos ^[168].

En el estudio reciente español de Rodríguez- Manfredi A ^[121] no hubo diferencias entre el grupo de estudio (piezas de conización sin lesión) y el grupo control (pieza de conización con diagnóstico CIN2-3) en cuanto a la edad, el hábito del tabaco o estado inmune. Este grupo afirmó que la posibilidad de que la lesión no fuera eliminada en la pieza de conización era bastante improbable si la pieza de conización incluía la zona de transformación. Podría ocurrir únicamente cuando la unión escamo-columnar se situaba muy alta en el canal endocervical, y se realizaba una extirpación pequeña que podría dejar lesión en la parte más alta del canal endocervical. En otros casos donde la zona de transformación era muy extensa y ocupaba la mayoría del exocérnix y la lesión era muy pequeña y periférica, la conización era posible que no extirpara toda la lesión afecta. La conización bajo visión colposcópica permite identificar la lesión a extirpar y minimiza el riesgo de dejar epitelio anormal.

El mismo estudio mencionado previamente concluye que las pacientes con menores alteraciones en la colposcopia antes de la conización fueron las que tuvieron mayor probabilidad de tener ausencia de lesión en la histología definitiva. Hallaron también una fuerte asociación entre el test de VPH y los resultados de la conización. Las pacientes con HPV negativo o carga viral baja antes de la conización tuvieron

mayor posibilidad de obtener una pieza de conización con biopsia negativa. Para Rodríguez- Manfredi, el test de VPH y la baja carga viral demostraron ser los mayores predictores de ausencia de CIN para una $p=0,001$ ^[121].

Así se plantea que las pacientes con VPH negativo o carga viral baja (<10URL in HC2) a pesar de tener una biopsia de alto grado debería ser reevaluadas antes de realizar una conización para confirmar o excluir la regresión de la lesión.

5.-MÁRGENES AFECTOS.

De los 260 conos, en el 15% (39 casos) hubo márgenes afectos y en el 85% márgenes no afectos. De las pacientes con márgenes afectos, estaba afecto sólo el margen exocervical en el 10,25% (4 casos), el margen endocervical en el 7,6% (3 casos) y ambos márgenes en el 82 % (32 casos).

En el estudio comparativo de las pacientes con márgenes afectos, el 77,8% de los pacientes no presentaron enfermedad después de la conización y el 22,2% sí. En las pacientes con bordes libres el 95,6% no presentó enfermedad residual/recurrente y el 4,4% sí. Esta variable sí presentó significación estadística con una $p=0,001$. De estos datos parece claro concluir que la valoración de los márgenes como afectos debería ponernos en guardia ante la posibilidad de enfermedad residual en la paciente, que en esta serie ocurre con un riesgo superior a 6 veces con respecto a las mujeres con márgenes libres OR es de 6,25 (IC 95% de 2,2 - 17, 5).

Como se ha descrito en los resultados, en el análisis de regresión logística univariante la edad mayor de 35 años, los márgenes afectos, la citología después de la conización y el VPH después de la conización son las variables que presentan significación estadística. Los márgenes afectos para una $p= 0,001$ tienen un OR: 6,03 IC (95%) 2,1-16,89. En la regresión logística multivariante, la variable de márgenes afectos mantiene significación estadística junto con la edad mayor de 35 años, y el VPH positivo después de la conización, no demostrándolo la profundidad de la pieza de conización menor o igual de 8mm. Los márgenes afectos presenta un OR: 4,42 (IC 95% 1,1-16,9). Al retirar la profundidad menor o igual de 8mm del estudio multivariante, sólo los márgenes afectos y el VPH positivo son significativos y demuestran ser factores de riesgo para la presencia de enfermedad

residual/recurrente $p=0,015$ con OR =5,15 IC (95% 1,3-19,3). Sin embargo en nuestro estudio, la afectación sólo del margen exocervical comparada con la afectación del margen endocervical, que es la mayoría de los casos, no muestran significación estadística.

En la bibliografía, la frecuencia de los márgenes afectos oscila entre el 10.8-46% [122, 169, 170]. La mayoría de los estudios demuestran que los márgenes afectos incrementan significativamente el riesgo de enfermedad residual [119, 171-173]. En el estudio de Houfflin-Debargue y cols [148], las pacientes con márgenes positivos que fueron el 36%, tuvieron significativamente mayor presencia de enfermedad residual que aquellas con márgenes no afectos (27% vs 5%, $P < 0,0001$). Sin embargo no hubo correlación entre los márgenes y la recurrencia (3% vs 2%). En el estudio de Serati y cols. [113], con un amplio seguimiento de pacientes conizadas durante 10 años, el 32% de las pacientes presentaron márgenes afectos y se encontró que éste fue el factor predictor más importante de enfermedad recurrente, al igual que en los trabajos de Prato [174] y Baloglu [110].

En el estudio de Alonso y cols. [115] los márgenes fueron positivos en un 32,5%. De todas las pacientes con los márgenes afectos el margen exocervical estuvo afecto en el 46%, el endocervical en el 45% y ambos en el 4,5%. No hubo diferencias significativas, al igual que en nuestro estudio, en el riesgo de enfermedad residual/recurrente dependiendo del margen que fuera evaluado. Los márgenes de la pieza de conización fueron positivos en el 79% de las pacientes con casos de recurrencia como H-SIL o mayor y en el 50% de los casos de recurrencia con L-SIL o mayor. Se concluyó que el tener márgenes afectos en la pieza de conización se asociaba significativamente con un mayor riesgo de enfermedad residual/recurrente. Sin embargo sólo el 63% en su serie (95% en la nuestra) de las pacientes con márgenes no afectos no tuvo enfermedad residual/recurrente y el 11,8 % en su trabajo (4,4% en la nuestro estudio) de las pacientes con márgenes no afectos tuvo enfermedad residual /recurrente. Este es un dato que indicaría que los márgenes de resección podrían tener un uso limitado como predictor de enfermedad residual y que, por tanto, en casos de reconización e histerectomía no nos deberíamos basar sólo en los márgenes de resección. En este sentido, la aparición de enfermedad residual

/recurrente puede ser debida a enfermedad multifocal, lesiones endocervicales focales o persistencia del VPH.

En el estudio de Lubrano y cols ^[112], n=682, el porcentaje de márgenes afectos fue del 20%. El margen exocervical estuvo afecto en el 42,3%, el endocervical en el 49,6% y ambos en el 8%. Se observaron diferencias significativas para el riesgo de enfermedad residual/recurrente en las pacientes con márgenes afectos con $p > 0,0001$, pero tampoco hubo diferencias, como en nuestro caso, si el margen afecto era el exocervical o el endocervical. Este grupo sugiere que aunque en los casos con diagnóstico en la pieza de conización de CIN 3 y márgenes afectos se podría repetir la cirugía, por el riesgo de enfermedad residual, los pacientes deben ser informados de que no todas las mujeres con márgenes afectos tienen enfermedad residual/recurrente ya que la mayoría de los casos presentan una regresión espontánea. Este grupo analizó el riesgo de carcinoma residual invasivo en pacientes con CIN 3 con márgenes afectos, estudiando las muestras de una segunda cirugía. En sus datos ninguna de las pacientes tuvo displasia severa ni se halló enfermedad invasiva.

Actualmente, las recomendaciones actuales ^[124] en caso de margen afecto son el seguimiento después de la conización a los 3 meses con citología y colposcopia y el test de VPH mínimo a los 6 meses. Únicamente en las pacientes con $>$ de 50 años se mantiene una actitud menos conservadora.

6.-LEGRADO POSTCONIZACIÓN

Se realizó legrado postconización en 117 casos (45%) y no se realizó en 143 casos (55%). De aquellos en los que se realizó 98 casos no tuvieron lesión, 10 casos presentaron H-SIL (2 CIN 2, 8 CIN3) y 6 casos presentaron muestra insuficiente. En el estudio comparativo, sólo disponemos de una N= 107, donde en las pacientes sin enfermedad residual recurrente, 100 casos, presentaron en su mayoría el diagnóstico de no lesión, y en 5 casos la biopsia fue insuficiente. Tan sólo hubo 7 casos con enfermedad residual/recurrente que tuvieran legrado postconización, de los cuales 5 no tuvieron lesión y 2 presentaron CIN 3. No se obtuvo significación estadística.

La limitación fundamental en nuestro estudio es que en menos del 50% de las pacientes realizamos legrado endocervical, existiendo 147 casos perdidos, y esto probablemente no permite una valoración correcta de la rentabilidad de la técnica. En los casos donde sí se realizó legrado, el resultado más frecuente fue el de la ausencia de lesión y en aquellos que estudiamos la presencia o no de enfermedad residual/recurrente (91 casos), el 94,5% no presentó enfermedad residual, pero en el 5,5% (5 casos) sí se detectó enfermedad residual/recurrente. Todos estos casos con enfermedad residual/recurrente tenían los márgenes afectos excepto un caso de una paciente de 24 años, donde la pieza de conización tampoco presentó lesión. En los restantes 4 casos con enfermedad residual/recurrente, todos tuvieron la citología después de la conización con resultado de CIN 2+, el VPH postconización fue positivo (2 casos VPH 16, 1 caso VPH 31 y otro coinfección 6 VPHs, similares a VPH preconización) y en un caso se realizó una reconización con resultado CIN2. En 3 casos la profundidad de la pieza de conización fue $\leq 8\text{mm}$ (2 con 5mm) y el último caso era una paciente de 50 años y márgenes positivos, aunque la profundidad de la pieza de la conización fue de 15mm.

Aunque está definido por protocolo la realización del legrado endocervical o toma endocervical después de la exéresis de la lesión, es evidente que hay dudas sobre su rentabilidad diagnóstica. Y que son otros indicadores, como la citología después de la conización y el test de VPH los principales factores de riesgo para la existencia de enfermedad residual/recurrente^{[171][175]}.

7.-PROFUNDIDAD DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN

De los 243 casos donde se determinó la profundidad de la pieza de conización, tuvimos 17 casos perdidos donde no se determinó la profundidad, la media fue de 11,22 mm, con un IC (95%) de 10,8- 11,8. La mediana fue 10 mm. La amplitud intercuartil fue 7mm.

El 28% de las piezas de conización presentó una profundidad menor o igual de 8mm y el 64% mayor de 8mm. Fue más frecuente, en el 52,7% de los casos, que la profundidad de la pieza de conización fuera menor o igual de 10mm, que mayor de 10mm, hecho que ocurrió en el 40,8%.

Presentaron enfermedad residual en el estudio comparativo el 6,4% de las pacientes con piezas de conización con una profundidad mayor de 8mm y el 10% de las pacientes con pieza de conización con una profundidad menor o igual de 8 mm. Aunque se observó una tasa mayor de enfermedad residual/recurrente en conizaciones con profundidad menor de 8 mm, este hecho no presentó significación estadística, con $p=0,32$.

Con el punto de corte de profundidad de la pieza de conización en 10 mm hubo un porcentaje similar de enfermedad residual/recurrente y no hubo por tanto significación estadística.

La profundidad en la pieza de conización ha sido estudiada en muchos trabajos que sugieren una relación entre la morbilidad y la gestación que ocurre después de un tratamiento excisional de una neoplasia intraepitelial de alto grado. Aunque la etiología exacta es desconocida, la profundidad o altura de la pieza de conización se ha mostrado directamente relacionada con el riesgo de rotura prematura de membranas (RPM) y el parto pretérmino. Esto parece lógico, a mayor profundidad de la pieza de conización mayor el daño en el cérvix uterino y mayor el riesgo de parto pretérmino. Bruinsma y cols ^[104] determinaron que en una cohorte de 1951 mujeres que había recibido tratamiento excisional el 11,5% de las mujeres tuvieron un parto pretérmino y de ellas el 3,5 % fue antes de las 32 semanas de gestación.

Kyrgiou y cols. ^[102] hallaron que los tratamientos excisionales para la CIN estaban significativamente asociados con efectos adversos obstétricos. En este metaanálisis, se identificaron 27 estudios en MEDLINE y EMBASE con distintas técnicas para realizar la conización y sus resultados en lo referente a la fertilidad y la gestación. Tanto la conización con bisturí frío como la conización con asa asociaron un mayor riesgo de parto pretérmino y bajo peso al nacimiento (<2500 kgr). Se analizaron las dimensiones de la pieza de conización, pero pocos estudios investigaron la asociación entre la cantidad de tejido extirpada y los resultados obstétricos. Algunos datos existían sobre la altura del cono en asa de diatermia y la conización con láser. En 3 estudios ^[99, 101, 175] el riesgo de APP se asoció, tanto con el asa de diatermia como con el láser, con una profundidad menor o mayor de 10mm. El riesgo se incrementaba si era mayor de 10mm, (RR 2,6, IC 95% 1.3- 5.3). Si la profundidad de la pieza de

conización era menor o igual de 10mm, los resultados eran heterogéneos. Dos estudios ^[101, 175] no identificaron un aumento del riesgo y uno ^[99] sí mostró asociación significativa.

Sadler y cols ^[101] expusieron que las mujeres que presentaban piezas de conización con una altura > de 17 mm tenían tres veces más riesgo de rotura prematura de membranas comparada con una cohorte de mujeres que no habían sido tratadas. Acharya y col ^[176] determinaron un aumento del parto pretérmino en las mujeres con más de 25mm de profundidad en la pieza de conización comparada con los controles.

Jakobson y cols ^[177] describía que por cada mm que aumentáramos la profundidad de la pieza de conización el riesgo de parto pretérmino aumentaba un 20% (O.R. 1.96 IC 95% 1.03-1.09). En 2012, Khalid y cols ^[178] asociaban un aumento del parto pretérmino en aquellas pacientes donde las piezas de conización superaban los 12mm de profundidad (RR=2.98, IC 95% 1.27-701) y los 6cm³ de volumen (RR=3.00 IC 95% 1.45-5.92). En el estudio de Berreta y cols ^[179] se mostraba que después de la realización de un asa de diatermia con más de 15mm de profundidad el riesgo de parto pretérmino se incrementaba. Sin embargo no se asociaba con infertilidad por estenosis cervical.

Hay numerosos trabajos apoyando el metaanálisis de Kyrgiou ^[102] y la evidencia de que los tratamientos excisionales para la CIN incrementan el riesgo de parto pretérmino, bajo peso al nacimiento y complicaciones neonatales ^{[180],[181]}. Un reciente estudio realizado por Ang y cols ^[182] ha establecido que las piezas de conización con menos de 10mm de profundidad deberían ser las apropiadas en mujeres en edad reproductiva (\leq 35 años) para evitar los potenciales efectos adversos en gestaciones futuras sin tener mayor riesgo de enfermedad residual. A diferencia de piezas de conización con tamaños mayores que se realizaban con dicho objetivo, pero sin un menor riesgo de enfermedad residual. Sin embargo en mujeres mayores de 35 años había un índice de recurrencia significativamente mayor (OR: 2.8, IC 95% 1.08-7.69) en las piezas de conización con profundidad menor o igual de 8mm comparados con los de más de 8mm de profundidad. Con 10 mm de profundidad no se asociaba un aumento de enfermedad recurrente. Durante los 48 meses de seguimiento no hubo

diferencias significativas en cuanto al tiempo de recurrencia entre las pacientes menores o iguales de 35 años y las mayores de 35 años. Aunque en las pacientes mayores de 35 años, 4 de cada 5 que recurrían de forma precoz eran conizaciones con mnos o gual a 8mm ($p=0,036$). A diferencia de las paciente mayores de 35 años que el 76,9% de las recurrencias precoces eran vistas en piezas de conización de más de 8mm de profundidad.

Además de los resultados adversos perinatales, se ha estudiado cuál era la profundidad mínima necesaria en la pieza de conización que permitiera erradicar la CIN. En un estudio anatomopatológico realizado Anderson y Hartley^[84] se determinó la extensión de las criptas glandulares en una lesión intraepitelial de alto grado. Un total de 343 piezas de conización fueron revisadas, de modo que la media de profundidad de las criptas que estaban involucradas era de 1.24 mm y de las no relacionadas fue de 3,38mm. También se determinó que la profundidad máxima de una glándula cervical normal era 7,8 mm. Heatley^{Heatley Mk} estudió 280 piezas de conización con asa hallando similares resultados y estableció que casi el 100% de las criptas glandulares estaban dentro de 4,8 mm de la cara epitelial.

Milinic y cols^[183] en 218 muestras también hallaron que una conización con 4 mm de profundidad eliminaba el 99% de la CIN. En el mismo estudio encontraron que para nulíparas y multíparas las piezas de conización de 15 y 18 mm de longitud respectivamente no presentaban ningún margen endocervical afecto.

Fadi y cols^[184] en 319 muestras de conización también investigaron la extensión lineal entre la CIN y la localización de la CIN en el cérvix. Ellos demostraron que para erradicar el 95% de la CIN debería existir una profundidad de 3,6mm para una distancia de 16mm. El 87,2 % de las lesiones ocurrían en la zona de transformación mientras que el 3,1% de las lesiones ocurrían en el ectocérnix y el 9,7% de las lesiones se encontraban localizadas en el canal endocervical (ocurriendo estas el 28% en pacientes mayores de 51 años).

Boonstra y cols.^[85] encontraron similares resultados. Para erradicar el 99% de la CIN se requerían piezas de conización con 3,6mm de profundidad. Donde sí se hallaban las criptas afectas era en aquellas con una extensión lineal de 14.8mm y una

extensión desde el punto más caudal del ectocérvix, de 1mm distalmente y 21mm proximalmente.

Actualmente las recomendaciones generales de la NHS Cervical Screening Programme Guidance y European Guidelines on Colposcopy ^{Department of health} han establecido que los tratamientos con asa deben tener al menos 8mm de profundidad. Y aunque en el estudio de Ang ^[182], las pacientes mayores de 35 años con una profundidad menor o igual d 8mm no representaron mayor incidencia de enfermedad residual, parece razonable mantener esta medida para asegurar la extirpación completa de la lesión.

Basándonos en todo lo expuesto anteriormente, la hipótesis principal de nuestro estudio era evaluar si las pacientes en edad reproductiva, mayores de 35 años, con piezas de conización menor o igual de 8 mm de profundidad, presentaban una mayor incidencia de enfermedad residual/recurrente. En nuestro estudio la profundidad de la conización, ni de 8mm ni de 10mm, presentó significativamente estadística para la presencia de enfermedad residual/recurrente. Al realizar el estudio multivariante ni la edad > de 35 años, ni la profundidad < de 8mm es significativa en relación con los márgenes afectos y el test de VPH postconización positivo.

Los datos presentes en nuestra serie, serían acordes para evitar un mayor riesgo obstétrico en gestaciones futuras y extirpar de forma correcta el tejido en cérvix uterino que garantiza la erradicación de la CIN.

8.-VOLUMEN DE LA PIEZA DE CONIZACIÓN.

La media del volumen en cm³ es 2,97, siendo la mediana 2,09 cm³. En los casos sin enfermedad residual/recurrente la media fue 2,9 cm³, la mediana 2,09 cm mientras que en los casos que presentaban enfermedad residual/recurrente, la media fue 3,66 cm³ y la mediana 2,35 cm³. Estos resultados no presentaron significación estadística. A pesar de extirpar una mayor cantidad de tejido las pacientes presentaron una mayor tasa de enfermedad residual/recurrente. Conociendo que la profundidad de la conización era similar en ambos grupos, podríamos suponer que extirpamos una mayor cantidad de tejido exocervical, en sentido medio lateral y antero-posterior que

probablemente no fuera tan necesario, y deberíamos disminuir el volumen de nuestras piezas de conización a expensas de estos parámetros.

Los trabajos de Brunisma y cols ^[104] y los de Sadler y cols ^[101] detallaron la relación entre la altura de la pieza de conización y el riesgo de parto pretérmino o rotura prematura de membranas, pero realmente no se conocía la etiología exacta de los afectos adversos obstétricos. Es posible que el volumen total de la pieza de conización y no sólo la altura pudiera estar relacionada con las complicaciones obtétricas y perinatales, ya que la altura de la pieza de conización pueda no ser una representación verdadera de la cantidad de tejido que se extirpa en una conización. Podía ser que el volumen de la pieza de conización fuera más significativo que la profundidad.

En esta línea de investigación surgieron diversos trabajos, como el de Leiman y cols ^[185] que en su trabajo miden el volumen de la pieza de conización y establecen que cuando es mayor de 4cm³ hay un aumento de los abortos espontáneos y del parto pretérmino en el embarazo.

El trabajo de Phadnis y cols, ^[139] es un estudio retrospectivo donde se comparó el volumen de tejido extirpado mediante láser (797 casos) y mediante asa de diatermia (339 casos). Lo novedoso de este trabajo fue como se calculó el volumen de la pieza de conización, que ya se ha explicado al exponer material y métodos. A diferencia de aplicar solo las tres dimensiones ($a \times b \times c \times \pi$), consideró las piezas de conización como hemielipsoides.

Los resultados fueron que la media de volumen con el láser fue de 1,82 cm³ (rango de 0,12-10,11 cm³), mientras que la media con el asa de diatermia fue 0,78 cm³ (rango 0,02-8,06 cm³) con resultado CIN 1,2 o 3, y con resultado CIN 2-3 media de 0.82 cm³. Hubo diferencias estadísticamente significativas en el volumen de los conos obtenidos mediante las dos técnicas siendo mayor con el láser ($p < 0,0001$). La media de la altura para el láser fue 2cms (rango 0,7-3 cm³) mientras que con el asa fue de 1,6 cm (rango 0,6-3,4 cm³), esto tuvo significación estadística en ambos grupos.

Aunque en este trabajo existía una relación lineal entre la profundidad y la altura de la pieza de conización, se insistió en que algunos datos deberían ser mejor

estudiados. Esto quería decir que aunque la altura de una pieza de conización fuera un valor determinante para el volumen, la superficie de la base de la pieza de conización contribuiría igualmente. Así, aunque la altura pudiera ser usada como valor subrogado para el volumen, en muchos casos no sería un sustituto exacto. Lo que era importante es que cuando se realizaba un tratamiento excisional debía ser efectivo y eliminar la cantidad de tejido necesaria para conseguir su objetivo final. En los tratamientos excisionales, sobre todo con en casos de lesiones pequeñas, con menor superficie, el volumen de la pieza de conización podría ser una variable significativa en el riesgo del parto pretérmino y las complicaciones relacionadas con la gestación. Aunque esto pasa por conocer si es más importante la altura de la pieza de conización o el volumen en relación con las gestaciones futuras.

En 2013 se publica por el grupo de Grimm ^[186] un estudio retrospectivo de 804 mujeres tratadas con asa de diatermia y bisturí frío determinando el volumen de la pieza basándose en el trabajo de Phadnis ^[139]. 392 pacientes fueron tratadas con bisturí frío con una media de edad de 38 años, 412 con asa con media de edad de 34 años. El volumen fue $2,1 \text{ cm}^3$ vs $1,6 \text{ cm}^3$ para una profundidad de 17 mm vs 10 mm ($p < 0.001$). La resección de tejido fue significativamente menor con el asa de diatermia que con el bisturí frío. Sin embargo las piezas de conización con mayor volumen y profundidad no asociaban una mayor tasa de resecciones completas.

En un reciente trabajo publicado en enero de 2014 por el grupo de Sozen y cols ^[187] se analizaron los resultados perinatales en pacientes conizadas con bisturí frío (grupo de estudio) y un grupo de pacientes sin conización previa a la gestación (grupo control) así como la relación con el volumen y la altura de la pieza de conización. El parto pretérmino (PP) y la rotura prematura de membranas (RPM) fueron significativamente más frecuentes en el grupo de estudio que en el grupo control. El grupo de estudio que presentó un parto con $<$ de 37 semanas tuvo un volumen de la pieza de conización significativamente mayor que aquellas cuyo parto fue $>$ de 37s. Para las pacientes diagnosticadas de rotura prematura de membranas, la media del volumen y la altura de la pieza de conización fueron mayores en el grupo diagnosticado de RPM. En los casos de PP el punto de corte del volumen fue $2,27 \text{ cm}^3$ y el caso de RPM el punto de corte fue 3.99 cm^3 . Los autores encuentran que el volumen

de la pieza de conización es más importante que la altura a la hora de valorar las complicaciones perinatales.

Deben de continuar los estudios para valorar de forma correcta el volumen de las piezas de conización con una misma medida y sus repercusiones en los resultados obstétricos y perinatales. En nuestra serie hemos expuesto la relación clara existente entre la profundidad y el volumen de la pieza de conización, representada por una regresión lineal reflejada gráficamente en un diagrama de puntos. A mayor profundidad de la pieza de conización mayor volumen. Esta relación es acorde con lo reflejado por la literatura ^[139].

9.-CITOLOGÍA POSTCONIZACIÓN.

Con una N=243, el resultado más frecuente fue presentar la primera citología después de la conización negativa para lesión intraepitelial, 64,3% (166 casos) . En las citologías patológicas, el 35,7%, el resultado más frecuente fue ASC-US en el 15,5%, L-SIL en el 8,5% , H-SIL en el 3,1 %, ASC-H en el 1,2% y AGUS en el 0,4%.

El resultado de ASC-US fue 97,5% en pacientes sin enfermedad residual/recurrente frente al 2,5% en pacientes con enfermedad residual /recurrente.

L-SIL estuvo presente el 77,3% frente al 22,7%, mientras que H-SIL fue 12,5 % en las pacientes sin enfermedad residual/recurrente frente al 87,5% en las pacientes con enfermedad residual. Las pacientes con enfermedad residual/recurrente presentaron citología con H-SIL en el 87,5% de los casos y L-SIL en el 22,7% de los casos.

Tanto los resultados de la primera, la segunda y la tercera citología después de la conización presentaron significación estadística. Agrupando los resultados en citología de bajo grado y alto grado. El tener una citología de alto grado despues de la conización tanto en el primer control, como en el segundo como en el tercero demostró ser un factor de riesgo para presentar enfermedad residual/recurrente , como se especifica en la siguiente tabla:

Tabla 55.Resultados Citología de Alto Grado. Enfermedad residual/recurrente.

CITOLOGIA ALTO GRADO	P	OR	IC(95 %)
1ª CITOLOGÍA	0,001	62	15.7-245
2ª CITOLOGIA	0,005	2,33	11,7-42,2
3ª CITOLOGÍA	0,005	64	4,7-860

En el estudio de Alonso y cols,^[115] el análisis multivariante mostró que la citología después de la conización también presentaba una asociación estadísticamente significativa OR: 12,65, IC (95%)1,40-15.56 ; p=0,012.

Las recomendaciones en el seguimiento después de la conización indican^[124] control mediante citología a los 6 meses de la cirugía si los márgenes están libres y a los 3 meses si los márgenes están afectados. En el metaanálisis de Arbyn^[66] se recomienda el seguimiento con citología, aunque no hay consenso sobre el tiempo de seguimiento. Zielinski^[171] propone combinar la citología y el test de VPH durante los 6-24 meses después de la conización y mantener el control durante 5 años.

10.- VPH POSTCONIZACIÓN.

10.1.-DATOS DESCRIPTIVOS Y DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS.

El resultado más frecuente durante el seguimiento fue hallar el VPH negativo, en el 67,3% de las pacientes. De las pacientes con VPH positivo después de la conización, en el 32,7 %, lo más frecuente, fue la infección por un único genotipo, distinto del VPH 16 o 18, que ocurrió en el 53,7 % de los casos. En segundo lugar estuvo la coinfección por VPH ni 16 ni 18, en el 22,38%, en tercer lugar la infección por el VPH 16 en el 17,91%, luego la coinfección con VPH 16 o 18 en el 5,9%, y por último la infección por el VPH 18 en el 2,98%. Hubo también 2 casos con VPH de bajo riesgo (2,98%).

De las pacientes con VPH positivo que desarrollaron enfermedad residual/recurrente el VPH 16 fue el más prevalente detectándose en el 47,05%. Las pacientes con infección por un único genotipo distinto del VPH 16 o 18 sólo desarrollaron enfermedad residual en el 26% de los casos y tampoco aumentó la tasa de enfermedad residual en las pacientes que presentaron coinfección respecto a las que tuvieron infección por un solo genotipo.

De los 17 casos de enfermedad residual/recurrente a 4 pacientes se les realizó una histerectomía, en 2 casos por patología benigna asociada, y a 7 pacientes una reconización, y 6 casos no precisaron de cirugía por ser lesiones de bajo grado.

En el trabajo de Alonso y cols ^[115] el porcentaje de pacientes con VPH positivo después del cono fue el 32,5 % casi similar a nuestra serie. También presentaron un caso con enfermedad residual donde el VPH fue negativo, curiosamente esta paciente tuvo una carga viral muy alta antes de la conización. Esto es acorde con que pocas lesiones de alto grado que presentan VPHs de alto riesgo no son detectadas por los test de rutina ^[44, 188]. En el trabajo de Lubrano ^[112] y colaboradores el 25% de los pacientes presentaron el VPH positivo después de la conización

Tabla 56. Casos con VPH positivo después de la conización /enfermedad residual-recurrente. Conizaciones en Hospital de Guadalajara 2007-2010

CASO	VPH PRECONIZACIÓN	1º VPH POSTCONIZACIÓN	CITO POST	2ºVPH POST	CITO POST	RECONO	AP
1	16	16	HSIL			HTA	CIN3
2	31	31	HSIL;AGUS.			SI	CIN2
3	No conocido	48,68	LSIL	42,66	L-SIL	NO	CIN1
4	33,51	51,81	L-SIL			NO	
5	16	16	L-SIL	16	L-SIL	SI	CIN2
6	16	16	H-SIL			HTA	CIN2
7	16	16	H-SIL			HTA	CIN3.Ca in situ
8	18,53,58	53,58,53,84,62	L-SIL	53,58,53,84,62	L-SIL	NO	L-SIL
9	52, 51,16,18,31	35	L-SIL	59,33,84	ASC-US	NO	
10	66,58,16,18,53,31	53,51,58,18,61,81,59,66	H-SIL			SI	CIN3
11	16	16	H-SIL			SI	CIN2
12	16	14	H-SIL			HTA	CIN3
13	31	31	H-SIL			SI	CIN2
14	16	16	H-SIL			NO	CIN1
15	33	33	H-SIL			SI	CIN2
16	16	Negativo	Negativa	61	ASC-US	NO	CIN1
17	16	16	H-SIL			SI	CIN3

En el trabajo de Costa y cols ^[142], donde la determinación de VPH fue realizada con PCR, la primera determinación de VPH fue positiva en el 70,6% y negativa en el 29,4%. En determinaciones sucesivas del VPH, el porcentaje de casos positivos fue disminuyendo, de tal manera que en la segunda determinación bajó al 33,5% y en la tercera al 18,8%. El VPH 16 fue el genotipo hallado con mayor frecuencia, como en nuestra serie, estando sólo en el 50% de los casos de VPH positivo. También fue el genotipo de VPH que acumuló mayor número de casos con enfermedad residual/recurrente, como en nuestra serie, y sólo 2 casos con VPH 16 positivo no tuvieron enfermedad residual, mientras que en nuestra serie 5 casos.

Como se adelantó en los resultados los casos de VPH positivo del Hospital de Guadalajara que no presentaron enfermedad residual/recurrente fueron 31 casos:

- 1.-11 casos de coinfección múltiple no 16 ni 18.
- 2.-5 casos de VPH 16.
- 3.-2 casos de VPH 18.
- 4.-3 casos de coinfección con VPH 16 o 18
- 5.-2 casos de VPH de bajo riesgo.

De las pacientes con VPH negativo el 99,3% no tuvo enfermedad residual/recurrente y sólo un caso, el 0,7%, que tuvo enfermedad después de la conización, fue una reinfección por un nuevo VPH, como hemos visto en la tabla descriptiva de los 17 casos con enfermedad residual/ recurrente.

En el estudio de Houfflin-Debarge V ^[148], un total de 34,6% de las pacientes tuvieron positivo el test de VPH después de la conización (a los 3 meses). El índice de persistencia del VPH varía entre el 6-61% dependiendo de los métodos usados para la detección del DNA de VPH, el tipo de tratamiento, el tiempo de tratamiento y evaluación ^[116, 170, 189, 190].

Muchos estudios han demostrado que la conización erradica la CIN pero no la infección por el VPH ^[170]. Esto puede ser explicado por la localización multicéntrica de

la infección por el VPH ^[191]. La conización elimina la lesión displásica pero no todo el epitelio anormal infectado por el VPH.

En este estudio de Houfflin –Debarge ^[148] el 81,5% de las pacientes con H-SIL que desarrollaron enfermedad residual tuvieron persistente el VPH los 3 meses mientras el VPH fue negativo en el 72% de las pacientes sin enfermedad residual. Una infección latente en el epitelio normal o un fallo del test de VPH en la muestra para detectar títulos de DNA- VPH por debajo del punto de corte para ocasionar displasia, podrían explicar la presencia de DNA de VPH en pacientes con citología normal después de la conización ^{[189] (213)}.

El 31% de las pacientes con VPH positivo después del tratamiento desarrolló enfermedad residual comparado con el 4% cuando el test era negativo ($p < 10^{-7}$). Esto no puede ser explicado por la presencia de los márgenes positivos en el grupo con VPH positivo ya que la afectación de los márgenes era igual en los dos grupos (VPH positivo después de la conización y VPH negativo). Esto fue también demostrado por Kucera ^[190].

La recurrencia después de una excisión completa de la CIN puede ser debida a enfermedad multifocal, insuficiente excisión de la lesión afecta, o una verdadera recurrencia por exposición al VPH (nuevo o el mismo tipo de VPH). De acuerdo a Chua y Hjerpe la prevalencia del VPH postconización es del 96% en recurrencias y 0 en controles (VPH analizado con PCR) ^{[192],[193]}.

10.2.-ANALISIS UNIVARIANTE Y MULTIVARIANTE.

La presencia del VPH positivo después de la conización fue estadísticamente significativa. Tanto en el análisis univariante como en el multivariante se mantuvo la significación estadística.

Tabla 57. Análisis Univariante y Multivariante de VPH positivo postconización .Análisis multivariante 2 (edad, márgenes, VPH post).Multivariante 3 (márgenes .VPH post)

ANALISIS	P	OR	IC (95%)
Univariante	0,001	42,96	5,66-331,83
Multivariante 2	0,0001	53,05	6,4-433,7
Multivariante 3	0,0001	49,3	6,1-399,1

La presencia del VPH positivo después de la conización es el factor residual que más se asocia con la persistencia de enfermedad residual/recurrente, resultando superior a la presencia de los márgenes afectos y a la citología después de la conización.

Por análisis con regresión logística Paraskevaidis y colaboradores demostraron que el test de VPH predice el fallo de tratamiento mejor que la primera citología después del tratamiento o que los márgenes positivos ^[194]. En el estudio de Alonso y cols ^[115] en el análisis multivariante el test de VPH-AR demostró ser estadísticamente significativo, OR 1,44; IC (95%) 1,23-1,70; $p < 0,0001$. En el trabajo de Lubrano y cols ^[112] el análisis multivariante el test de VPH fue estadísticamente significativo con OR: 4,1; IC (95 %) 2,4-7,3 $p < 0,0001$. Estos trabajos, por tanto, coinciden con la importancia que esta variable ha mostrado en este trabajo de investigación.

10.3.-SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VALOR PREDICTIVO POSITIVO Y VALOR PREDICTIVO NEGATIVO.

Se exponen a continuación los datos de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo (VPN) y valor predictivo positivo (VPP) para enfermedad residual/recurrente después del tratamiento de la primera citología después de la conización y la primera determinación de VPH mediante PCR que aparecen en nuestra muestra.

Tabla 58. Sensibilidad, Especificidad, Valor predictivo negativo (VPN) y Valor predictivo positivo (VPP) para enfermedad residual/recurrente postconización de la 1ª citología y la 1ª determinación de VPH.

VARIABLE	Sensibilidad % (IC 95%)	Especificidad % (IC 95%)	VPP % (IC 95%)	VPN % (IC 95%)
1ª Citología	52,9 (26,5-79,4)	98,2 (96,5-100)	69,2 (40,2-98,3)	96,5 (94,1-98,9)
1º VPH post	94,1 (81,6-106)	72,9 (66,6-79,1)	22,9 (12,8-32,9)	99,3 (98 -100,1)

La sensibilidad de la citología es menor que la encontrada en otros estudios aunque el VPN es muy alto. El Test de VPH presenta sin embargo una alta sensibilidad y un alto VPN, así como una adecuada especificidad.

En nuestra serie la sensibilidad y la especificidad de la 2ª citología después de la conización es del 100% y el test de VPH en una segunda determinación tiene una sensibilidad y especificidad del 100% y el 69,7%, pero es relativamente valorable, debido al alto número de casos perdidos durante el seguimiento. En la citología hay 58 casos perdidos y en la segunda determinación del VPH postconización 117 casos. Por ello, únicamente nos parece reseñable, para comparar con la literatura, los valores de la primera citología y del primer test de VPH después de la cirugía.

Bollen y cols mostraron que el test de VPH tuvo una sensibilidad del 100% y una especificidad del 44% para detectar fallos de tratamiento ^[189]. En el estudio de Houfflin-Debarge ^[148] ninguna de las pacientes donde el test de VPH fue negativo desarrollaron recurrencia. En las pacientes con recurrencia, la sensibilidad del test de VPH fue del 100% y la especificidad del 67%, el VPP 6% y el VPN 100%. Como las mayores recurrencias ocurren en los 2 primeros años es necesario incluir más pacientes en la muestra para tener más resultados.

En el trabajo de Alonso y cols ^[115], la sensibilidad de la primera citología fue del 83,3%, la especificidad del 92,2%, el VPP 69,8% y VPN 96,3%. Del test de VPH la sensibilidad fue del 97,2 %, la especificidad del 81,4%, el VPP del 48% y el VPN del 99,3%. No se encontraron diferencias entre la primera y segunda determinación de VPH a los 6 y 12m después del tratamiento. Este estudio mostró que la combinación de

una única citología con el test de VPH a los 6 meses de la conización tuvo una alta sensibilidad para detectar mujeres con enfermedad residual/recurrente. En este grupo de pacientes la sensibilidad y el VPN alcanzaron el 100% con una buena especificidad, del 76,6%.

El test de VPH durante el seguimiento tuvo una alta sensibilidad y VPN (97,2% y 99,3% respectivamente) como han demostrado estudios previos ^{[116], [195]}. Estos valores fueron claramente superiores a la sensibilidad demostrada por una única citología (83,3% y 92,2% respectivamente) ^{[188], [44]}. El test de VPH mostró una especificidad menor que la citología (81.4 vs 92,2%) y confirmó que en el seguimiento después de una conización debemos incluir la citología y el test de VPH. El uso de citologías repetidas demostró en este trabajo un aumento de la sensibilidad, 94,4 %. Estos resultados fueron similares a los presentados por Nobbenhuis y cols ^[125], lo cual permitió disminuir los controles y evitar citologías innecesarias como también sugirieron Zielinski y cols ^[171].

En una revisión sistemática y metaanálisis realizado por el grupo de Kocken ^[158] y publicada en el 2012, se revisaron los estudios que fueron publicados entre enero de 2003 y mayo de 2011, estos estudios fueron identificados a través de datos bibliográficos publicados en la base de datos de Pub Med, Embase.com and Wiley/ Biblioteca de la Cochrane. La referencia estándar en la búsqueda fue el diagnóstico de CIN 2/3 mediante histología en el seguimiento de pacientes después de un tratamiento de una lesión de alto grado. Los resultados fueron que después de 2014 citas bibliográficas potencialmente relevantes, se incluyeron 8 publicaciones con 1513 pacientes:

-La sensibilidad de la citología fue de 0.79 (95%CI 0.72-0.85) y 0.92 (0.87-0.96) para el test de VPH-AR y 0.95 (0.91-0.98) para ambos.

-El test de VPH tenía mayor sensibilidad que la citología para predecir CIN 2+ después de un tratamiento.

-La especificidad para la citología fue 0.81 (95%CI 0.74-0.86) 0.76 (0.67-0.84) para el test de VPH-AR 0.67 (0.60-0.74) ambos.

-El test de VPH y la citología tuvieron una especificidad similar.

La conclusión final era que debemos incluir el test de VPH a los 6 meses del seguimiento de las pacientes después de un tratamiento CIN 2+ al ser una prueba más sensible que la citología.

En nuestra serie hemos visto que la mayoría de los casos con enfermedad residual/recurrente presentan el mismo genotipo de VPH antes de la conización y después de ella, hay 7 casos con VPH 16 positivo, 2 con VPH 31, uno con VPH 33, y otro con la presencia de coinfección donde persiste el VPH 51. El disponer de la técnica de la PCR para el estudio del VPH nos permite saber el genotipo específico y estudiar su importancia sobre el riesgo de enfermedad residual/recurrente, lo cual no ocurre con otros test como el HC-II.

Si comparamos el Test de VPH-AR, con genotipado, con la citología como predictores de recurrencia de neoplasia intraepitelial de alto grado y como método para evaluar la efectividad el tratamiento con asa de diatermia, encontramos que sí parece interesante no saber sólo si la paciente tiene un VPH-AR sino qué genotipo es y si coincide con el VPH-AR presente antes de la conización.

Así en un trabajo de Gök y cols ^[196] se revisaba si aquellos pacientes que durante el seguimiento postconización presentaban VPH 16 positivo tenían mayor riesgo de enfermedad residual/recurrente que aquellos con otro genotipo de alto riesgo. Se incluyeron 229 pacientes y se realizó un periodo de seguimiento de 20 meses. Los resultados fueron que:

-Presentaban enfermedad residual/recurrente CIN 3, 39 de las 151 (19%) pacientes con VPH 16 positivo versus 8 de las 78 (8%) pacientes con otro VPH de alto riesgo.

-La tasa de CIN 3 era significativamente mayor en las pacientes VPH 16 positivo comparada con las pacientes con otro VPH de alto riesgo.

-Ninguno de los otros pacientes de VPH-AR asociaba una mayor tasa de CIN3 postratamiento.

Así concluyeron que las mujeres con VPH 16 positivo debían tener un seguimiento mayor por la capacidad de progresión del virus y que el genotipado del VPH- AR debería contemplarse en los programas de seguimiento.

En un trabajo de Ann Söderlund-Strand ^[141] publicado en 2013, se realizó un seguimiento a 178 pacientes que habían sido tratadas mediante conización con asa de diatermia. Las visitas eran a los 3, 6, 12, 24, y 36 meses con determinación de citología y test de DNA de VPH. Después de 3 años de seguimiento:

- 4 pacientes (3,1%) presentaban persistentemente el mismo tipo de VPH que había sido detectado antes de la conización.

- Se encontró enfermedad residual /recurrente CIN 2+ confirmada con histología en 9 pacientes (5,1%).

- Todas estas mujeres tuvieron persistencia del mismo tipo específico de VPH con una sensibilidad del 100% (95% IC 63-100%) y una especificidad del 94% (89.8-97.4%) pero sólo 7/9 tuvieron una citología anormal, con una sensibilidad del 77.8% (40.2-96.1%) y especificidad del 94.7% (89.8-97.4%).

- En otras mujeres con otros patrones de VPH positivo como: cambio de tipo viral o fluctuaciones en el resultado del test de VPH positivo...no se encontraba enfermedad residual o recurrente (sensibilidad 0% [IC 95% 0-37] y especificidad 80.5% [73.5-86.0]).

En conclusión la presencia de un único tipo de VPH específico y persistente predijo la enfermedad residual o recurrente y el genotipado del VPH fue útil para mejorar la especificidad del test de VPH en el seguimiento de pacientes después de una conización.

VI-CONCLUSIONES

1.-Las pacientes intervenidas de una conización con asa de diatermia que presentan mayor riesgo de enfermedad residual/recurrente son aquellas con márgenes afectos y VPH de alto riesgo positivo después de la cirugía. Estas dos variables presentan significación estadística, tanto en el análisis de regresión logística univariante como en el análisis multivariante.

2.-La presencia de VPH de alto riesgo después de la cirugía supone un mayor riesgo de enfermedad residual/recurrente que la presencia de márgenes afectos.

3.- Las pacientes mayores de 35 años presentan mayor riesgo de enfermedad residual/ recurrentes en el análisis de regresión logística univariante.

4.- Las pacientes menores de 21 años no presentaron ningún caso de enfermedad residual/recurrente lo que orienta a adoptar una actitud conservadora en estos casos.

5.-El VPH más prevalente antes de la conización es el VPH 16 y después de la conización, la infección por un único genotipo distinto del VPH 16 y 18.

6.-El VPH más prevalente en las pacientes con enfermedad residual/recurrente intervenidas de una conización fue el VPH 16.

7.- La presencia de coinfección por VPH no asocia un mayor riesgo de presentar lesión intraepitelial de alto grado ni mayor riesgo de enfermedad residual/recurrente sin presentar significación estadística.

8. En esta serie de pacientes la profundidad de la pieza de conización no se asocia con un mayor riesgo de enfermedad residual recurrente, ni para un punto de corte de 8mm ni de 10 mm.

9.- La profundidad de la pieza de conización en este trabajo es acorde a las recomendaciones de las guías europeas.

11.-El volumen de la pieza de conización no influye en el riesgo de enfermedad residual/recurrente.

12. El resultado de citología de alto grado en el seguimiento después de la conización se asocia con mayor riesgo de enfermedad residual/recurrente. Esta variable presenta significación estadística en el análisis de regresión logística univariante.

VII-BIBLIOGRAFIA

1. Fusté Brull, P., *Historia natural y Oncogénesis del HPV*, in *Cursos Clínic de Ginecología Oncológica*. 2008;marzo.
2. Schwarz, E., et al., *Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells*. *Nature*, 1985. **314**(6006): p. 111-4.
3. de Villiers, E.M., et al., *Classification of papillomaviruses*. *Virology*, 2004. **324**(1): p. 17-27.
4. de Villiers, E.M., et al., *Human papillomavirus infections in women with and without abnormal cervical cytology*. *Lancet*, 1987. **2**(8561): p. 703-6.
5. Chan, S.Y., et al., *Analysis of genomic sequences of 95 papillomavirus types: uniting typing, phylogeny, and taxonomy*. *J Virol*, 1995. **69**(5): p. 3074-83.
6. Parkin, D.M. and F. Bray, *Chapter 2: The burden of HPV-related cancers*. *Vaccine*, 2006. **24 Suppl 3**: p. S3/11-25.
7. Munoz, N., et al., *Incidence, duration, and determinants of cervical human papillomavirus infection in a cohort of Colombian women with normal cytological results*. *J Infect Dis*, 2004. **190**(12): p. 2077-87.
8. Patel, S. and S. Chiplunkar, *Host immune responses to cervical cancer*. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2009. **21**(1): p. 54-9.
9. Lehtinen, M., et al., *Evaluation of antibody response to human papillomavirus early proteins in women in whom cervical cancer developed 1 to 20 years later*. *Am J Obstet Gynecol*, 2003. **188**(1): p. 49-55.
10. Moscicki, A.B., et al., *Variability of human papillomavirus DNA testing in a longitudinal cohort of young women*. *Obstet Gynecol*, 1993. **82**(4 Pt 1): p. 578-85.
11. Hanahan, D. and R.A. Weinberg, *The hallmarks of cancer*. *Cell*, 2000. **100**(1): p. 57-70.
12. Pietras, K. and A. Ostman, *Hallmarks of cancer: interactions with the tumor stroma*. *Exp Cell Res*, 2010. **316**(8): p. 1324-31.
13. Mueller, M.M. and N.E. Fusenig, *Friends or foes - bipolar effects of the tumour stroma in cancer*. *Nat Rev Cancer*, 2004. **4**(11): p. 839-49.
14. Scheffner, M., et al., *The state of the p53 and retinoblastoma genes in human cervical carcinoma cell lines*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991. **88**(13): p. 5523-7.
15. Zehbe, I., et al., *Human papillomavirus 16 E6 variants differ in their dysregulation of human keratinocyte differentiation and apoptosis*. *Virology*, 2009. **383**(1): p. 69-77.
16. Ziegert, C., et al., *A comprehensive analysis of HPV integration loci in anogenital lesions combining transcript and genome-based amplification techniques*. *Oncogene*, 2003. **22**(25): p. 3977-84.
17. Hurlin, P.J., et al., *Progression of human papillomavirus type 18-immortalized human keratinocytes to a malignant phenotype*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991. **88**(2): p. 570-4.
18. Um, S.J., et al., *Down-regulation of human papillomavirus E6/E7 oncogene by arsenic trioxide in cervical carcinoma cells*. *Cancer Lett*, 2002. **181**(1): p. 11-22.
19. Castle, P.E., et al., *Short term persistence of human papillomavirus and risk of cervical precancer and cancer: population based cohort study*. *Bmj*, 2009. **339**: p. b2569.
20. Stanley, M., *Immune responses to human papillomavirus*. *Vaccine*, 2006. **24 Suppl 1**: p. S16-22.
21. Cancer, I.I.C.o.H.P.V.H.a. *ICO (Institut Català d'Oncologia) Information Centre on HPV and Cancer*. 2014 [cited 2014; Available from: <http://www.hpvcentre.net/index.php>].
22. Clifford, G.M., et al., *Human papillomavirus genotype distribution in low-grade cervical lesions: comparison by geographic region and with cervical cancer*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005. **14**(5): p. 1157-64.

23. Clifford, G.M., et al., *Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis*. Br J Cancer, 2003. **88**(1): p. 63-73.
24. Smith, J.S., et al., *Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update*. Int J Cancer, 2007. **121**(3): p. 621-32.
25. Marrazzo, J.M., et al., *Papanicolaou test screening and prevalence of genital human papillomavirus among women who have sex with women*. Am J Public Health, 2001. **91**(6): p. 947-52.
26. AN, B., et al., *The effect of HPV vaccination on infection in partnerships*, in *EUROGIN 2010 Congress*, E.E.R.O.o.G.I.a. Neoplasia), Editor. 2008, EUROGIN (European Research Organisation on Genital Infection and Neoplasia): Monte Carlo.
27. Castellsague, X., et al., *Male circumcision, penile human papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners*. N Engl J Med, 2002. **346**(15): p. 1105-12.
28. Winer, R.L., et al., *Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women*. N Engl J Med, 2006. **354**(25): p. 2645-54.
29. Ho, G.Y., et al., *Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women*. N Engl J Med, 1998. **338**(7): p. 423-8.
30. Richardson, H., et al., *The natural history of type-specific human papillomavirus infections in female university students*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2003. **12**(6): p. 485-90.
31. Sherman, M.E., et al., *Baseline cytology, human papillomavirus testing, and risk for cervical neoplasia: a 10-year cohort analysis*. J Natl Cancer Inst, 2003. **95**(1): p. 46-52.
32. Kapeu, A.S., et al., *Is smoking an independent risk factor for invasive cervical cancer? A nested case-control study within Nordic biobanks*. Am J Epidemiol, 2009. **169**(4): p. 480-8.
33. Appleby, P., et al., *Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies*. Lancet, 2007. **370**(9599): p. 1609-21.
34. Samoff, E., et al., *Association of Chlamydia trachomatis with persistence of high-risk types of human papillomavirus in a cohort of female adolescents*. Am J Epidemiol, 2005. **162**(7): p. 668-75.
35. Castellsague, X. and N. Munoz, *Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis--role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking*. J Natl Cancer Inst Monogr, 2003(31): p. 20-8.
36. Rieck, G. and A. Fiander, *The effect of lifestyle factors on gynaecological cancer*. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2006. **20**(2): p. 227-51.
37. Khan, M.J., et al., *The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice*. J Natl Cancer Inst, 2005. **97**(14): p. 1072-9.
38. Wang, S.S. and A. Hildesheim, *Chapter 5: Viral and host factors in human papillomavirus persistence and progression*. J Natl Cancer Inst Monogr, 2003(31): p. 35-40.
39. Moscicki, A.B., et al., *Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer*. Vaccine, 2006. **24 Suppl 3**: p. S3/42-51.
40. Coglian, V., et al., *Carcinogenicity of human papillomaviruses*. Lancet Oncol, 2005. **6**(4): p. 204.
41. Ozsaran, A.A., et al., *Evaluation of the risk of cervical intraepithelial neoplasia and human papilloma virus infection in renal transplant patients receiving immunosuppressive therapy*. Eur J Gynaecol Oncol, 1999. **20**(2): p. 127-30.

42. de Sanjose, S., et al., *Age at sexual initiation and number of sexual partners in the female Spanish population Results from the AFRODITA survey*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2008. **140**(2): p. 234-40.
43. Schiffman, M.H., et al., *Accuracy and interlaboratory reliability of human papillomavirus DNA testing by hybrid capture*. J Clin Microbiol, 1995. **33**(3): p. 545-50.
44. Clavel, C., et al., *Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women*. Br J Cancer, 2001. **84**(12): p. 1616-23.
45. Bauer, H.M., et al., *Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by a PCR-based method*. JAMA, 1991. **265**(4): p. 472-7.
46. Castle, P.E., et al., *Comparison between prototype hybrid capture 3 and hybrid capture 2 human papillomavirus DNA assays for detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer*. J Clin Microbiol, 2003. **41**(9): p. 4022-30.
47. Snijders, P.J., A.J. van den Brule, and C.J. Meijer, *The clinical relevance of human papillomavirus testing: relationship between analytical and clinical sensitivity*. J Pathol, 2003. **201**(1): p. 1-6.
48. Denton, K.J., et al., *The sensitivity and specificity of p16(INK4a) cytology vs HPV testing for detecting high-grade cervical disease in the triage of ASC-US and LSIL pap cytology results*. Am J Clin Pathol, 2010. **134**(1): p. 12-21.
49. Huang, T.H., et al., *Quantitative analysis of methylation status of the PAX1 gene for detection of cervical cancer*. Int J Gynecol Cancer, 2010. **20**(4): p. 513-9.
50. Schwarz, T.F. and O. Leo, *Immune response to human papillomavirus after prophylactic vaccination with AS04-adjuvanted HPV-16/18 vaccine: improving upon nature*. Gynecol Oncol, 2008. **110**(3 Suppl 1): p. S1-10.
51. s.a, G.B. *Ficha técnica Cervarix®*. 2014; Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000721/WC500024632.pdf.
52. Paavonen, J., et al., *Efficacy of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic HPV types (PATRICIA): final analysis of a double-blind, randomised study in young women*. Lancet, 2009. **374**(9686): p. 301-14.
53. Joura, E.A., et al., *HPV antibody levels and clinical efficacy following administration of a prophylactic quadrivalent HPV vaccine*. Vaccine, 2008. **26**(52): p. 6844-51.
54. *Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions*. N Engl J Med, 2007. **356**(19): p. 1915-27.
55. GSK. *Ficha técnica Gardasil®*. [cited 2014; Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000703/WC500021142.pdf.
56. Skinner, R., et al., *Cross-protective efficacy of Cervarix™ against oncogenic HPV types beyond HPV 16-18*, in *25th International Papillomavirus Conference Clinical & Educational Workshop Abstract Book*. May 8-12 2009: Malmö Sweden. p. Abstract 0-29.01.
57. Franco, E.L., et al., *Chapter 20: Issues in planning cervical cancer screening in the era of HPV vaccination*. Vaccine, 2006. **24 Suppl 3**: p. S3/171-7.
58. Torné Baldé, A., et al., *Vacunación frente al cáncer de cérvix en mujeres fuera de los programas de vacunación sistemática con o sin infección por el virus del papiloma humano o lesión cervical. Encuesta de opinión y recomendaciones*. Prog Obstet Ginecol, 2012. **55**(Supl. 1): p. 10-31.
59. Cortés Bordoy, J., et al. *Documento de recomendaciones sobre vacunación en mujeres con o sin antecedentes de exposición al VPH*. Jul 2007.

-
60. de Sanjosé, S., et al., [Screening history in women with infiltrating uterine cancer]. *Gac Sanit*, 2006. **20**(2): p. 166-7.
 61. Strategies, I.W.G.o.t.E.o.C.-P., *Cervix cancer screening*. 2005, Lyon: IARC Press; [Oxford : Oxford University Press, distributor].
 62. Society, A.C., *Cancer Facts & Figures*. 2008, American Cancer Society: Atlanta, Georgia.
 63. ACOG Practice Bulletin: clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. Number 45, August 2003. *Cervical cytology screening (replaces committee opinion 152, March 1995)*. *Obstet Gynecol*, 2003. **102**(2): p. 417-27.
 64. Solomon, D., et al., *The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology*. *Jama*, 2002. **287**(16): p. 2114-9.
 65. Cuzick, J., et al., *Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening*. *Int J Cancer*, 2006. **119**(5): p. 1095-101.
 66. Arbyn, M., et al., *Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and meta-analysis*. *Obstet Gynecol*, 2008. **111**(1): p. 167-77.
 67. Walker, P., *The English National Health Service Cervical Screening Programme-- approach to new technologies and quality assurance*. *J Low Genit Tract Dis*, 2005. **9**(2): p. 118-23.
 68. Davey, E., et al., *Effect of study design and quality on unsatisfactory rates, cytology classifications, and accuracy in liquid-based versus conventional cervical cytology: a systematic review*. *Lancet*, 2006. **367**(9505): p. 122-32.
 69. Sankaranarayanan, R., et al., *HPV screening for cervical cancer in rural India*. *N Engl J Med*, 2009. **360**(14): p. 1385-94.
 70. Puig Tintoré, L., et al., *Prevención del cáncer de cuello uterino ante la vacunación frente a virus del papiloma humano*. *Prog Obstet Ginecol*, 2006. **49**(Supl. 2): p. 5-52.
 71. Cortés, J., et al., *Prevención primaria y secundaria de los cánceres de cuello de útero y vulva: recomendaciones para la práctica clínica*. *Prog Obstet Ginecolog*, 2010. **53**(Supl 1): p. 1-19.
 72. Hammes, L.S., et al., *Value of the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy (IFCPC) Terminology in predicting cervical disease*. *J Low Genit Tract Dis*, 2007. **11**(3): p. 158-65.
 73. Sellors, J.W., R. Sankaranarayanan, and International Agency for Research on Cancer., *Colposcopy and treatment of cervical intraepithelial neoplasia : a beginner's manual*. 2003, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. xii, 132 p.
 74. Martin-Hirsch, P.P., et al., *Surgery for cervical intraepithelial neoplasia*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2013. **12**: p. Cd001318.
 75. Soutter, W.P., P. Sasieni, and T. Panoskaltsis, *Long-term risk of invasive cervical cancer after treatment of squamous cervical intraepithelial neoplasia*. *Int J Cancer*, 2006. **118**(8): p. 2048-55.
 76. Murdoch, J.B., et al., *The impact of loop diathermy on management of early invasive cervical cancer*. *Int J Gynecol Cancer*, 1992. **2**(3): p. 129-133.
 77. Ferenczy, A., D. Choukroun, and J. Arseneau, *Loop electrosurgical excision procedure for squamous intraepithelial lesions of the cervix: advantages and potential pitfalls*. *Obstet Gynecol*, 1996. **87**(3): p. 332-7.
 78. Luesley, D.M., et al., *Loop diathermy excision of the cervical transformation zone in patients with abnormal cervical smears*. *Bmj*, 1990. **300**(6741): p. 1690-3.
 79. Flannelly, G., et al., **Standards and quality in colposcopy, How feasible are the National Guidelines**, O. Presentation, Editor. Apr 2007: BS CCP-GLASGOW.
 80. Ostergard, D.R., *Cryosurgical treatment of cervical intraepithelial neoplasia*. *Obstet Gynecol*, 1980. **56**(2): p. 231-3.
 81. Walton, L.A., et al., *Cryosurgery for the treatment of cervical intraepithelial neoplasia during the reproductive years*. *Obstet Gynecol*, 1980. **55**(3): p. 353-7.
-

82. Creasman, W.T., W.M. Hinshaw, and D.L. Clarke-Pearson, *Cryosurgery in the management of cervical intraepithelial neoplasia*. Obstet Gynecol, 1984. **63**(2): p. 145-9.
83. Schantz, A. and L. Thormann, *Cryosurgery for dysplasia of the uterine ectocervix. A randomized study of the efficacy of the single- and double-freeze techniques*. Acta Obstet Gynecol Scand, 1984. **63**(5): p. 417-20.
84. Anderson, M.C. and R.B. Hartley, *Cervical crypt involvement by intraepithelial neoplasia*. Obstet Gynecol, 1980. **55**(5): p. 546-50.
85. Boonstra, H., et al., *Minimum extension and appropriate topographic position of tissue destruction for treatment of cervical intraepithelial neoplasia*. Obstet Gynecol, 1990. **75**(2): p. 227-31.
86. Dobbs, S.P., et al., *Does histological incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia following large loop excision of transformation zone increase recurrence rates? A six year cytological follow up*. Bjog, 2000. **107**(10): p. 1298-301.
87. Zaitoun, A.M., et al., *Completeness of excision and follow up cytology in patients treated with loop excision biopsy*. J Clin Pathol, 2000. **53**(3): p. 191-6.
88. Flannelly, G., et al., *Follow up after LLETZ: could schedules be modified according to risk of recurrence?* Bjog, 2001. **108**(10): p. 1025-30.
89. McHale, M.T., et al., *Fertility sparing treatment for in situ and early invasive adenocarcinoma of the cervix*. Obstet Gynecol, 2001. **98**(5 Pt 1): p. 726-31.
90. Shin, C.H., et al., *Conservative management of adenocarcinoma in situ of the cervix*. Gynecol Oncol, 2000. **79**(1): p. 6-10.
91. Soutter, W.P., et al., *Is conservative treatment for adenocarcinoma in situ of the cervix safe?* Bjog, 2001. **108**(11): p. 1184-9.
92. Maini, M., et al., *The management and follow-up of patients with high-grade cervical glandular intraepithelial neoplasia*. Int J Gynecol Cancer 1998. **8**(4): p. 287-291.
93. Morgan, P.R., et al., *The Royal College of Obstetricians and Gynaecologists micro-invasive carcinoma of the cervix study: preliminary results*. Br J Obstet Gynaecol, 1993. **100**(7): p. 664-8.
94. Winter, R., *Conservative surgery for microinvasive carcinoma of the cervix*. J Obstet Gynaecol Res, 1998. **24**(6): p. 433-6.
95. Kietpeerakool, C., et al., *Routine prophylactic application of Monsel's solution after loop electrosurgical excision procedure of the cervix: is it necessary?* J Obstet Gynaecol Res, 2007. **33**(3): p. 299-304.
96. Chan, K.K., et al., *The use of vaginal antimicrobial after large loop excision of transformation zone: a prospective randomised trial*. Bjog, 2007. **114**(8): p. 970-6.
97. Penna, C., et al., *Laser CO2 conization in postmenopausal age: risk of cervical stenosis and unsatisfactory follow-up*. Gynecol Oncol, 2005. **96**(3): p. 771-5.
98. Dunn, T.S., et al., *Absent endocervical cells on Pap smears after loop electrosurgical excision procedure*. J Low Genit Tract Dis, 2007. **11**(3): p. 138-40.
99. Samson, S.L., et al., *The effect of loop electrosurgical excision procedure on future pregnancy outcome*. Obstet Gynecol, 2005. **105**(2): p. 325-32.
100. Crane, J.M., *Pregnancy outcome after loop electrosurgical excision procedure: a systematic review*. Obstet Gynecol, 2003. **102**(5 Pt 1): p. 1058-62.
101. Sadler, L. and A. Saftlas, *Cervical surgery and preterm birth*. J Perinat Med, 2007. **35**(1): p. 5-9.
102. Kyrgiou, M., et al., *Obstetric outcomes after conservative treatment for intraepithelial or early invasive cervical lesions: systematic review and meta-analysis*. Lancet, 2006. **367**(9509): p. 489-98.
103. Andia, D., et al., *Pregnancy outcome in patients treated with cervical conization for cervical intraepithelial neoplasia*. Int J Gynaecol Obstet, 2011. **112**(3): p. 225-8.

104. Bruinsma, F., et al., *Precancerous changes in the cervix and risk of subsequent preterm birth*. Bjog, 2007. **114**(1): p. 70-80.
105. Jakobsson, M., et al., *Preterm delivery after surgical treatment for cervical intraepithelial neoplasia*. Obstet Gynecol, 2007. **109**(2 Pt 1): p. 309-13.
106. Arbyn, M., et al., *Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: meta-analysis*. Bmj, 2008. **337**: p. a1284.
107. Kalliala, I., et al., *Cancer free survival after CIN treatment: comparisons of treatment methods and histology*. Gynecol Oncol, 2007. **105**(1): p. 228-33.
108. Hermann, A. and J. Gómez *Presentación tardía de carcinoma vaginal posneoplasia intraepitelial cervical III*. Prog Obstet Ginecol, 2002. **45**(3): p. 112-113.
109. Chan, B.K., et al., *Posttreatment human papillomavirus testing for recurrent cervical intraepithelial neoplasia: a systematic review*. Am J Obstet Gynecol, 2009. **200**(4): p. 422.e1-9.
110. Baloglu, A., et al., *Residual and recurrent disease rates following LEEP treatment in high-grade cervical intraepithelial lesions*. Arch Gynecol Obstet, 2010. **282**(1): p. 69-73.
111. Chen, Y., et al., *Factors associated with positive margins in patients with cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and postconization management*. Int J Gynaecol Obstet, 2009. **107**(2): p. 107-10.
112. Lubrano, A., et al., *Follow-up after LLETZ: a study of 682 cases of CIN 2-CIN 3 in a single institution*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2012. **161**(1): p. 71-4.
113. Serati, M., et al., *Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia recurrence after conization: a 10-year study*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2012. **165**(1): p. 86-90.
114. Leguevaque, P., et al., *Predictors of recurrence in high-grade cervical lesions and a plan of management*. Eur J Surg Oncol, 2010. **36**(11): p. 1073-9.
115. Alonso, I., et al., *Pre- and post-conization high-risk HPV testing predicts residual/recurrent disease in patients treated for CIN 2-3*. Gynecol Oncol, 2006. **103**(2): p. 631-6.
116. Nagai, Y., et al., *Persistence of human papillomavirus infection after therapeutic conization for CIN 3: is it an alarm for disease recurrence?* Gynecol Oncol, 2000. **79**(2): p. 294-9.
117. Acladios, N.N., et al., *Persistent human papillomavirus infection and smoking increase risk of failure of treatment of cervical intraepithelial neoplasia (CIN)*. Int J Cancer, 2002. **98**(3): p. 435-9.
118. Andersen, E.S., B. Pedersen, and K. Nielsen, *Laser conization: the results of treatment of cervical intraepithelial neoplasia*. Gynecol Oncol, 1994. **54**(2): p. 201-4.
119. Paraskevaidis, E., et al., *Factors affecting outcome after incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia*. Eur J Gynaecol Oncol, 2003. **24**(6): p. 541-3.
120. Song, S.H., et al., *Persistent HPV infection after conization in patients with negative margins*. Gynecol Oncol, 2006. **101**(3): p. 418-22.
121. Rodriguez-Manfredi, A., et al., *Predictors of absence of cervical intraepithelial neoplasia in the conization specimen*. Gynecol Oncol, 2013. **128**(2): p. 271-6.
122. Narducci, F., et al., *Positive margins after conization and risk of persistent lesion*. Gynecol Oncol, 2000. **76**(3): p. 311-4.
123. Park, J.Y., et al., *Risk factors predicting residual disease in subsequent hysterectomy following conization for cervical intraepithelial neoplasia (CIN) III and microinvasive cervical cancer*. Gynecol Oncol, 2007. **107**(1): p. 39-44.
124. Wright, T.C., Jr., et al., *2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ*. Am J Obstet Gynecol, 2007. **197**(4): p. 340-5.

125. Nobbenhuis, M.A., et al., *Addition of high-risk HPV testing improves the current guidelines on follow-up after treatment for cervical intraepithelial neoplasia*. Br J Cancer, 2001. **84**(6): p. 796-801.
126. Bollen, L.J., et al., *Human papillomavirus DNA after treatment of cervical dysplasia: low prevalence in normal cytologic smears*. Cancer, 1996. **77**(12): p. 2538-43.
127. Bray, F., et al., *Incidence trends of adenocarcinoma of the cervix in 13 European countries*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2005. **14**(9): p. 2191-9.
128. Smith, H.O., et al., *The rising incidence of adenocarcinoma relative to squamous cell carcinoma of the uterine cervix in the United States--a 24-year population-based study*. Gynecol Oncol, 2000. **78**(2): p. 97-105.
129. Castellsague, X., et al., *Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention*. J Natl Cancer Inst, 2006. **98**(5): p. 303-15.
130. Lubrano, A. and O. Falcon, *Adenocarcinoma de Cervix*, in *Patología del tracto genital inferior y Colposcopia en España.2005*, A.E.d.P.C.y. Colposcopia, Editor. 2006, Puig Tintoré LM, Andía Ortiz D: Barcelona. p. 6-72.
131. Hildesheim, A. and A. Berrington de Gonzalez, *Etiology and prevention of cervical adenocarcinomas*, in *J Natl Cancer Inst*. 2006: United States. p. 292-3.
132. Jou, P., et al., *El adenocarcinoma in situ de cervix*. Prog Obstet Ginecol, 2000. **43**: p. 69-74.
133. Levine, L., J.A. Lucci, 3rd, and T.V. Dinh, *Atypical glandular cells: new Bethesda Terminology and Management Guidelines*. Obstet Gynecol Surv, 2003. **58**(6): p. 399-406.
134. DiSAia, P. and W. Creasman, *Enfermedad preinvasora del cuello uterino*, in *Oncología Ginecológica Clínica*, H. Brace, Editor. 1999. p. 1-32.
135. Prendiville, W., J. Cullimore, and S. Norman, *Large loop excision of the transformation zone (LLETZ). A new method of management for women with cervical intraepithelial neoplasia*. Br J Obstet Gynaecol, 1989. **96**(9): p. 1054-60.
136. Dunne, E.F., et al., *Prevalence of HPV infection among females in the United States*. Jama, 2007. **297**(8): p. 813-9.
137. Harris, J. and H. Stocker, *Handbook of mathematics and computational science*. 1998, New York ; London: Springer.
138. Hilbert, D. and S. Cohn-Vossen, *Geometry and the imagination*. The Cylinder, The Cone, The CONic Sections and Their Surfaces of Revolution. 1990, Chelsea: AMS Chelsea, 1999.
139. Phadnis, S.V., et al., *The volume perspective: a comparison of two excisional treatments for cervical intraepithelial neoplasia (laser versus LLETZ)*. Bjog, 2010. **117**(5): p. 615-9.
140. Ghaem-Maghami, S., et al., *Incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia and risk of treatment failure: a meta-analysis*. Lancet Oncol, 2007. **8**(11): p. 985-93.
141. Soderlund-Strand, A., L. Kjellberg, and J. Dillner, *Human papillomavirus type-specific persistence and recurrence after treatment for cervical dysplasia*. J Med Virol, 2014. **86**(4): p. 634-41.
142. Costa, S., et al., *Factors predicting human papillomavirus clearance in cervical intraepithelial neoplasia lesions treated by conization*. Gynecol Oncol, 2003. **90**(2): p. 358-65.
143. Trope, A., et al., *Role of high-risk human papillomavirus (HPV) mRNA testing in the prediction of residual disease after conisation for high-grade cervical intraepithelial neoplasia*. Gynecol Oncol, 2011. **123**(2): p. 257-62.
144. Simoons, C., et al., *Adverse obstetrical outcomes after treatment of precancerous cervical lesions: a Belgian multicentre study*. Bjog, 2012. **119**(10): p. 1247-55.

-
145. Fahey, M.T., L. Irwig, and P. Macaskill, *Meta-analysis of Pap test accuracy*. Am J Epidemiol, 1995. **141**(7): p. 680-9.
 146. Nanda, K., et al., *Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review*. Ann Intern Med, 2000. **132**(10): p. 810-9.
 147. Boyes, D.A., H.K. Fidler, and D.R. Lock, *Significance of in situ carcinoma of the uterine cervix*. Br Med J, 1962. **1**(5273): p. 203-5.
 148. Houfflin Debarge, V., et al., *Value of human papillomavirus testing after conization by loop electrosurgical excision for high-grade squamous intraepithelial lesions*. Gynecol Oncol, 2003. **90**(3): p. 587-92.
 149. Bollen, L.J., et al., *Clearance of cervical human papillomavirus infection by treatment for cervical dysplasia*. Sex Transm Dis, 1997. **24**(8): p. 456-60.
 150. Bosch, F.X., et al., *Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group*. J Natl Cancer Inst, 1995. **87**(11): p. 796-802.
 151. Burger, M.P., et al., *Predictive value of human papillomavirus type for histological diagnosis of women with cervical cytological abnormalities*. Bmj, 1995. **310**(6972): p. 94-5.
 152. Kaufman, R.H., et al., *Relevance of human papillomavirus screening in management of cervical intraepithelial neoplasia*. Am J Obstet Gynecol, 1997. **176**(1 Pt 1): p. 87-92.
 153. Kjellberg, L., et al., *A population-based study of human papillomavirus deoxyribonucleic acid testing for predicting cervical intraepithelial neoplasia*. Am J Obstet Gynecol, 1998. **179**(6 Pt 1): p. 1497-502.
 154. Remmink, A.J., et al., *The presence of persistent high-risk HPV genotypes in dysplastic cervical lesions is associated with progressive disease: natural history up to 36 months*. Int J Cancer, 1995. **61**(3): p. 306-11.
 155. Schiffman, M.H., et al., *Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia*. J Natl Cancer Inst, 1993. **85**(12): p. 958-64.
 156. Kirwan, J.M. and C.S. Herrington, *Human papillomavirus and cervical cancer: where are we now?* Bjog, 2001. **108**(12): p. 1204-13.
 157. Schneede, P., et al., *Evaluation of HPV testing by Hybrid Capture II for routine gynecologic screening*. Acta Obstet Gynecol Scand, 2001. **80**(8): p. 750-2.
 158. Kocken, M., et al., *High-risk human papillomavirus testing versus cytology in predicting post-treatment disease in women treated for high-grade cervical disease: a systematic review and meta-analysis*. Gynecol Oncol, 2012. **125**(2): p. 500-7.
 159. Chaturvedi, A.K., et al., *Human papillomavirus infection with multiple types: pattern of coinfection and risk of cervical disease*. J Infect Dis, 2011. **203**(7): p. 910-20.
 160. Garcia-Espinosa, B., E. Moro-Rodriguez, and E. Alvarez-Fernandez, *Genotype distribution of human papillomavirus (HPV) in histological sections of cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical carcinoma in Madrid, Spain*. BMC Cancer, 2012. **12**: p. 533.
 161. Josefsson, A.M., et al., *Viral load of human papilloma virus 16 as a determinant for development of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study*. Lancet, 2000. **355**(9222): p. 2189-93.
 162. Sun, C.A., et al., *The significance of human papillomavirus viral load in prediction of histologic severity and size of squamous intraepithelial lesions of uterine cervix*. Gynecol Oncol, 2001. **83**(1): p. 95-9.
 163. Ylitalo, N., et al., *Consistent high viral load of human papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study*. Lancet, 2000. **355**(9222): p. 2194-8.

-
164. Livasy, C.A., D.T. Moore, and L. Van Le, *The clinical significance of a negative loop electrosurgical cone biopsy for high-grade dysplasia*. Obstet Gynecol, 2004. **104**(2): p. 250-4.
 165. Ryu, A., et al., *Absence of dysplasia in the excised cervix by a loop electrosurgical excision procedure in the treatment of cervical intraepithelial neoplasia*. J Gynecol Oncol, 2010. **21**(2): p. 87-92.
 166. Diakomanolis, E., et al., *Negative cone biopsies. A reappraisal*. J Reprod Med, 2003. **48**(8): p. 617-21.
 167. Li, Z.G., et al., *Three-step versus "see-and-treat" approach in women with high-grade squamous intraepithelial lesions in a low-resource country*. Int J Gynaecol Obstet, 2009. **106**(3): p. 202-5.
 168. Al-Nourhji, O., et al., *Pathology correlates of a Papanicolaou diagnosis of low-grade squamous intraepithelial lesion, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion*. Cancer, 2008. **114**(6): p. 469-73.
 169. Kanamori, Y., et al., *Residual disease and presence of human papillomavirus after conization*. Oncology, 1998. **55**(6): p. 517-20.
 170. Bistoletti, P., et al., *Genital papillomavirus infection after treatment for cervical intraepithelial neoplasia (CIN) III*. Cancer, 1988. **62**(9): p. 2056-9.
 171. Zielinski, G.D., et al., *HPV testing can reduce the number of follow-up visits in women treated for cervical intraepithelial neoplasia grade 3*. Gynecol Oncol, 2003. **91**(1): p. 67-73.
 172. Jain, S., et al., *Negative predictive value of human papillomavirus test following conization of the cervix uteri*. Gynecol Oncol, 2001. **82**(1): p. 177-80.
 173. Sarian, L.O., et al., *Factors associated with HPV persistence after treatment for high-grade cervical intra-epithelial neoplasia with large loop excision of the transformation zone (LLETZ)*. J Clin Virol, 2004. **31**(4): p. 270-4.
 174. Prato, B., et al., *Correlation of recurrence rates and times with posttreatment human papillomavirus status in patients treated with loop electrosurgical excision procedure conization for cervical squamous intraepithelial lesions*. Int J Gynecol Cancer, 2008. **18**(1): p. 90-4.
 175. Raio, L., et al., *Duration of pregnancy after carbon dioxide laser conization of the cervix: influence of cone height*. Obstet Gynecol, 1997. **90**(6): p. 978-82.
 176. Acharya, G., et al., *Pregnancy outcome after loop electrosurgical excision procedure for the management of cervical intraepithelial neoplasia*. Arch Gynecol Obstet, 2005. **272**(2): p. 109-12.
 177. Jakobsson, M., et al., *Loop electrosurgical excision procedure and the risk for preterm birth*. Obstet Gynecol, 2009. **114**(3): p. 504-10.
 178. Khalid, S., et al., *The thickness and volume of LLETZ specimens can predict the relative risk of pregnancy-related morbidity*. Bjog, 2012. **119**(6): p. 685-91.
 179. Berretta, R., et al., *Risk of preterm delivery associated with prior treatment of cervical precancerous lesion according to the depth of the cone*. Dis Markers, 2013. **35**(6): p. 721-6.
 180. Albrechtsen, S., et al., *Pregnancy outcome in women before and after cervical conisation: population based cohort study*. BMJ, 2008. **337**: p. a1343.
 181. Nøhr, B., et al., *Loop electrosurgical excision of the cervix and the subsequent risk of preterm delivery*. Acta Obstet Gynecol Scand, 2007. **86**(5): p. 596-603.
 182. Ang, C., et al., *Histological recurrence and depth of loop treatment of the cervix in women of reproductive age: incomplete excision versus adverse pregnancy outcome*. Bjog, 2011. **118**(6): p. 685-92.
 183. Milinovic, D., et al., *Minimally invasive therapy of cervical intraepithelial neoplasia for fertility preservation*. Pathol Oncol Res, 2009. **15**(3): p. 521-5.

184. Abdul-Karim, F.W., et al., *Morphometric study of intraepithelial neoplasia of the uterine cervix*. Obstet Gynecol, 1982. **60**(2): p. 210-4.
185. Leiman, G., N.A. Harrison, and A. Rubin, *Pregnancy following conization of the cervix: complications related to cone size*. Am J Obstet Gynecol, 1980. **136**(1): p. 14-8.
186. Grimm, C., et al., *Impact of conization type on the resected cone volume: results of a retrospective multi-center study*. Arch Gynecol Obstet, 2013. **288**(5): p. 1081-6.
187. Sozen, H., et al., *Pregnancy outcomes after cold knife conization related to excised cone dimensions. A retrospective cohort study*. J Reprod Med, 2014. **59**(1-2): p. 81-6.
188. Ordi, J., et al., *[Contribution of high risk human papillomavirus testing to the management of premalignant and malignant lesions of the uterine cervix]*. Med Clin (Barc), 2003. **121**(12): p. 441-5.
189. Bollen, L.J., et al., *Prediction of recurrent and residual cervical dysplasia by human papillomavirus detection among patients with abnormal cytology*. Gynecol Oncol, 1999. **72**(2): p. 199-201.
190. Kucera, E., et al., *Is high-risk human papillomavirus infection associated with cervical intraepithelial neoplasia eliminated after conization by large-loop excision of the transformation zone?* Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2001. **100**(1): p. 72-6.
191. Rymark, P., et al., *Genital HPV infection not a local but a regional infection: experience from a female teenage group*. Genitourin Med, 1993. **69**(1): p. 18-22.
192. Chua, K.L. and A. Hjerpe, *Human papillomavirus analysis as a prognostic marker following conization of the cervix uteri*. Gynecol Oncol, 1997. **66**(1): p. 108-13.
193. Hjerpe, A., et al., *Prevalence of genital papilloma virus infections in asymptomatic and symptomatic women, studied with a combined dot-blot and Southern blot procedure*. Microbiologica, 1992. **15**(3): p. 297-301.
194. Paraskevaidis, E., et al., *Human papillomavirus testing and the outcome of treatment for cervical intraepithelial neoplasia*. Obstet Gynecol, 2001. **98**(5 Pt 1): p. 833-6.
195. Hernadi, Z., et al., *Role of human papillomavirus (HPV) testing in the follow-up of patients after treatment for cervical precancerous lesions*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2005. **118**(2): p. 229-34.
196. Gok, M., et al., *HPV16 and increased risk of recurrence after treatment for CIN*. Gynecol Oncol, 2007. **104**(2): p. 273-5.

ANEXOS

Tabla 1.

Nacimientos según edad, estado civil y nacionalidad de la madre, orden del nacimiento y multiplicidad del parto ^{INE 2012}.

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
TOTAL	466.371	482.957	492.527	519.779	494.997	486.575	471.999	454.648
EDAD								
Menos de 15 años	153	167	148	178	124	131	145	143
De 15 años	473	460	516	539	460	387	414	380
De 16 años	1.180	1.303	1.319	1.333	1.216	1.018	932	899
De 17 años	2.313	2.434	2.673	2.536	2.269	2.007	1.798	1.684
De 18 años	3.763	3.917	4.079	4.357	3.732	3.472	2.929	2.716
De 19 años	5.149	5.417	5.871	6.190	5.468	4.723	4.195	3.902
De 20 a 24 años	44.355	45.953	48.260	51.925	46.503	43.668	38.676	35.934
De 25 a 29 años	115.145	116.686	115.118	118.278	107.270	100.537	92.716	86.096
De 30 a 34 años	183.215	188.203	189.191	197.976	188.909	185.759	179.677	169.939
De 35 a 39 años	94.105	100.170	105.657	114.441	116.006	120.350	124.396	124.666
De 40 a 44 años	15.729	17.153	18.450	20.714	21.466	22.887	24.553	26.535
De 45 a 49 años	733	1.042	1.183	1.213	1.481	1.526	1.466	1.630
De 50 y más años	58	52	62	99	93	110	102	124
ESTADO CIVIL								
Casada	342.433	345.916	343.582	347.468	324.393	313.804	295.734	277.679
No casada	123.938	137.041	148.945	172.311	170.604	172.771	176.265	176.969
Porcentaje de nacidos de madre no casada	26,5	28,4	30,2	33,2	34,5	35,5	37,3	38,9
NACIONALIDAD DE LA MADRE								
Española	396.112	403.054	399.041	411.584	392.411	386.563	379.909	367.197
Extranjera	70.259	79.903	93.486	108.195	102.586	100.012	92.090	87.451
ORDEN DEL NACIMIENTO								
1	254.683	263.140	282.910	277.218	264.774	255.786	247.454	236.913
2	165.344	171.818	160.121	189.079	178.398	178.794	175.709	169.990
3	35.284	36.642	37.058	39.949	38.459	38.682	36.802	36.094
4 y más	11.060	11.357	12.438	13.533	13.366	13.313	12.034	11.651
MULTIPLICIDAD DEL PARTO								
Sencillos	450.831	466.913	474.833	501.334	475.926	468.191	453.763	436.096
Dobles	8.225	8.510	9.254	9.696	9.965	9.653	9.629	9.796
Tríples	208	212	231	213	234	193	167	146
Cuádruples o más	1	0	1	4	2	0	1	1
Fuente de información: Movimiento Natural de la Población, INE.								